



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE BACTERIAS AISLADAS
DE CARNES DE BOVINOS EXPENDIDOS EN MERCADOS DE
LA CIUDAD DE JULIACA**

TESIS

PRESENTADO POR:

Br. YANETH LUCELY CARI CANAZA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO - PERÚ

2022



DEDICATORIA

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Me formaron con reglas y con algunas libertades, me motivaron constantemente para alcanzar mis metas.

A mis compañeros y amigos presentes y pasados, quienes sin esperar nada a cambio compartieron su conocimiento, alegrías y tristezas y a todas aquellas personas que durante estos cinco años estuvieron a mi lado apoyándome y lograron que este sueño se haga realidad.

Llena de regocijo, de amor y esperanza, dedico este proyecto, a cada uno de mis docentes de la facultad, quienes han sido mis pilares para seguir adelante. Es para mí una gran satisfacción poder dedicarles a ellos.

Y sin dejar atrás a toda mi familia por confiar en mí, a mis abuelitos, hermanos, tíos y primos, gracias por ser parte de mi vida y por permitirme ser parte de su orgullo.

Dedico esta tesis a mi primo Alex Rodrigo Canaza Choque Q.E.P.D. Quien en vida me ofreció el amor, comprensión, confianza y calidez de la familia.

Yaneth Lucely Cari Canaza



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano, que me dio la bienvenida y las oportunidades que me ha brindado son incomparables. A la Facultad de Ciencias Biológicas y los docentes que inculcaron en mi formación profesional. Ya sea de manera directa o indirecta, gracias a todos ustedes, fueron ustedes los responsables de realizar su aporte.

A mis padres hermanos y familiares que fueron mis mayores promotores durante este proceso, gracias a Dios que fue mi principal apoyo y motivador para cada día continuar sin renunciar.

A mis amigos, compañeros y personas que me apoyaron de una u otra manera, a Tania, Ricardo, Brandon, Frank, Julio y Héctor, que me motivaron y fueron un apoyo fundamental en la elaboración de mi tesis.

Este es un momento muy especial que espero perdure en el tiempo no solo en la mente de las personas a quienes agradecí. Sino también a quienes invirtieron su tiempo para echarle una mirada a mi proyecto de tesis. A todos así mismo les agradezco con todo mí ser.

Yaneth Lucely Cari Canaza



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 11

ABSTRACT..... 12

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 OBJETIVO GENERAL..... 14

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 14

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES 15

2.2 MARCO TEÓRICO..... 18

2.2.1 La carne de bovinos 18

2.2.2 Deterioro de la carne bovina 19

2.2.3 Parámetros intrínsecos y extrínsecos 22

2.2.4 Contaminación bacteriana de los alimentos 25

2.2.5 Legislación sobre la calidad de la carne de bovinos 30

2.2.6 Resistencia antimicrobiana 33

2.2.7 Administración de antibióticos en veterinaria 40

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO 45



3.2	TIPO DE ESTUDIO	45
3.3	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	46
3.4	RECuento DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS, <i>Escherichia coli</i> Y <i>Staphylococcus aureus</i> EN CARNE DE BOVINOS	46
3.5	SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE <i>Escherichia coli</i> Y <i>Staphylococcus aureus</i> AISLADAS DE CARNES DE BOVINO	49

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	RECuento DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS, <i>Escherichia coli</i> Y <i>Staphylococcus aureus</i> EN CARNE DE BOVINOS	51
4.2	SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE <i>Escherichia coli</i> FRENTE A AMPICILINA, CIPROFLOXACINA, CEFUROXIMA Y <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> FRENTE A PENICILINA, CLINDAMICINA Y ERITROMICINA 69	69
V.	CONCLUSIONES	83
VI.	RECOMENDACIONES	84
VII.	REFERENCIAS	85
	ANEXOS	101

Área: Ciencias Biomédicas

Línea: Diagnóstico y Epidemiología

Fecha de sustentación: 24 de enero del 2022.



ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Recuentos de bacterias aerobias mesófilas en carnes de bovino de tres mercados de la ciudad de Juliaca, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019. 52
- Figura 2.** Recuentos de *Escherichia coli* en carnes de bovino de tres mercados de la ciudad de Juliaca, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019..... 58
- Figura 3.** Recuentos de *Staphylococcus aureus* en carnes de bovino de tres mercados de la ciudad de Juliaca, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019. 64
- Figura 4.** Muestras de carnes de bovino colectado en tres mercados de la ciudad de Juliaca, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019. 103
- Figura 5.** Preparación de medios de cultivo para recuento de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019. 103
- Figura 6.** Plaqueo de medios de cultivo para los recuentos bacterianos, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019. 104
- Figura 7.** Crecimiento de colonias de recuento de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019..... 104
- Figura 8.** Recuento de colonias de bacterias aerobias mesófilas, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019. 104
- Figura 9.** Crecimiento de colonias de recuento de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019..... 105
- Figura 10.** Cultivo en agares para pruebas bioquímicas, pruebas de catalasa y coloración Gram para el reconocimiento bacteriano, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019. 105
- Figura 11.** Resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019..... 105



- Figura 12.** Resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019..... 106
- Figura 13.** Resultados de los halos de inhibición bacteriana en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019. 106



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición bromatológica en 100 g de pulpa de carne bovina (INS, 2009).	19
Tabla 2. <i>Staphylococcus aureus</i> : toxinas y efectos biológicos (Martínez, 2005).	29
Tabla 3. Criterios microbiológicos de la carne cruda de bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, camélidos, equinos, otros; refrigerada o congelada (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).....	32
Tabla 4. Criterios microbiológicos de las vísceras de aves, bovinos, ovinos y caprinos; refrigerada o congelada (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).	32
Tabla 5. Criterios microbiológicos de carnes crudas picadas y molidas (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).....	32
Tabla 6. Diámetros de halos de inhibición de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> frente a los antibióticos (INS, 2002).	37
Tabla 7. Recuentos de bacterias aerobias mesófilas en carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca, julio – septiembre 2019.	52
Tabla 8. Recuentos de <i>Escherichia coli</i> ($\times 10^6$ UFC/g) en carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca, julio – septiembre 2019.	58
Tabla 9. Recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i> en carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca, julio – septiembre 2019.....	64
Tabla 10. Promedios de diámetros de halos de inhibición de antibióticos sobre <i>Escherichia coli</i> aislados de carne de bovinos de tres mercados de la ciudad de Juliaca, agosto y noviembre del 2019.....	70
Tabla 11. Promedios de diámetros de halos de inhibición de antibióticos sobre <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de carne de bovinos de tres mercados de la ciudad de Juliaca, agosto y noviembre del 2019.....	76
Tabla 12. Halos de inhibición (mm) de <i>Escherichia coli</i> frente a los antibióticos, Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la FCCBB – UNA Puno, agosto – noviembre 2019.....	101
Tabla 13. Halos de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> frente a los antibióticos, Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la FCCBB – UNA Puno, agosto – noviembre 2019.	101



Tabla 14. Análisis de varianza de los recuentos de bacterias aerobias mesófilas entre muestras de carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca.....	101
Tabla 15. Análisis de varianza de los recuentos de <i>Escherichia coli</i> en muestras de carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca.....	102
Tabla 16. Análisis de varianza de los recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i> en muestras de carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca.	102



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

°C	: grados centígrados
C. V.	: coeficiente de variabilidad
D. E.	: desviación estándar
<i>et al.</i>	: y colaboradores
g	: gramo
M1, M2 y M3	: muestreos 1, 2 y 3
mm	: milímetros
NTS – LI	: Norma técnica sanitaria – límite inferior
NTS – LS	: Norma técnica sanitaria – límite superior
P	: probabilidad
pH	: potencial de hidrogeniones
Prom	: promedio
SARM	: <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a la meticilina
UFC/g	: unidades formadoras de colonia por gramo de muestra



RESUMEN

La carne bovina es una fuente importante de proteínas, donde proliferan diversos microorganismos contaminantes y patógenos, entre ellos *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* procedentes de animales administrados con antibióticos, desconociéndose la sensibilidad o resistencia. La investigación se ejecutó en el Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA – Puno, entre julio a septiembre del 2019. Los objetivos fueron: evaluar el recuento de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en carne de bovinos expendidos en los mercados Santa Bárbara, las Mercedes y Túpac Amaru de la ciudad de Juliaca y evaluar la respuesta a la prueba de susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los métodos consistieron en evaluar 9 muestras de carne, las bacterias fueron contabilizadas por el método de recuento en agar Plate Count, Endo y Baird Parker; la susceptibilidad antimicrobiana se determinó por el método de difusión con discos. Los resultados fueron: la carga de bacterias aerobias mesófilas osciló de 2.34×10^6 a 2.81×10^6 UFC/g, *Escherichia coli* de 2.10×10^6 a 2.23×10^6 UFC/g y *Staphylococcus aureus* entre 1.05×10^6 y 1.27×10^6 UFC/g ($P > 0.05$). *Escherichia coli* resultó resistente a la ampicilina en el mercado Santa Bárbara y a cefuroxima en los tres mercados, también fueron intermedias a la ampicilina en los mercados Las Mercedes y Túpac Amaru, y a la ciprofloxacina en todas las bacterias aisladas; *Staphylococcus aureus* fue resistente a la penicilina en bacterias aisladas de los tres mercados, a eritromicina las procedentes del mercado Santa Bárbara e intermedias a eritromicina y clindamicina en aquellas aisladas de los tres mercados. Se concluye que la carne de bovinos expendidos en los mercados de la ciudad de Juliaca, presentó recuentos de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* por encima de los límites permisibles de 10^7 UFC/g, 5×10^2 UFC/g y 10^3 UFC/g, respectivamente; *Escherichia coli* fue resistente a la ampicilina y cefuroxima y *Staphylococcus aureus* fue resistente a penicilina y eritromicina.

Palabras clave: Carne de bovinos, resistencia antimicrobiana, recuentos bacterianos.



ABSTRACT

Beef is an important source of protein, where various contaminating and pathogenic microorganisms proliferate, including *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from animals administered with antibiotics, with unknown sensitivity or resistance. The research was carried out in the Laboratory of Botany and Biotechnology of the Faculty of Biological Sciences of the UNA - Puno, between July and September 2019. The objectives were: to evaluate the count of mesophilic aerobic bacteria, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in meat of cattle sold in the Santa Bárbara, Las Mercedes and Túpac Amaru markets in the city of Juliaca and to evaluate the response to the antimicrobial susceptibility test of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The methods consisted of evaluating 9 samples of meat, the bacteria were counted by the Plate Count, Endo and Baird Parker agar count method; antimicrobial susceptibility was determined by the disk diffusion method. The results were: the load of mesophilic aerobic bacteria ranged from 2.34×10^6 to 2.81×10^6 CFU/g, *Escherichia coli* from 2.10×10^6 to 2.23×10^6 CFU/g, and *Staphylococcus aureus* between 1.05×10^6 and 1.27×10^6 CFU/g ($P > 0.05$). *Escherichia coli* was resistant to ampicillin in the Santa Bárbara market and to cefuroxime in the three markets, they were also intermediate to ampicillin in the Las Mercedes and Túpac Amaru markets, and to ciprofloxacin in all the isolated bacteria; *Staphylococcus aureus* was resistant to penicillin in bacteria isolated from the three markets, to erythromycin those from the Santa Bárbara market, and intermediate to erythromycin and clindamycin in those isolated from the three markets. It is concluded that the bovine meat sold in the markets of the city of Juliaca presented counts of mesophilic aerobic bacteria, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* above the permissible limits of 10^7 CFU/g, 5×10^2 CFU/g and 10^3 CFU/g, respectively; *Escherichia coli* was resistant to ampicillin and cefuroxime, and *Staphylococcus aureus* was resistant to penicillin and erythromycin.

Keywords: Bovine meat, antimicrobial resistance, bacterial counts.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En los mercados de la ciudad de Juliaca se expende carne de bovino, quienes poseen carga bacteriana con potencial patógeno que se constituiría en un problema de Salud Pública (Martínez *et al.*, 2017), difundiéndose en el medio ambiente contaminando el agua y los alimentos. La carne de bovino procede de camales formales y mataderos informales, desconociéndose la verdadera procedencia de los animales faenados, donde muchos de ellos probablemente hayan recibido dosificaciones de antibióticos no solo para el tratamiento de infecciones, más bien para aumentar y mejorar la producción pecuaria. En la investigación se evaluó la presencia de mesófilos aerobios, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en la carne bovina, con la finalidad de determinar su calidad higiénica y la susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* frente a los antibióticos según sea Gram negativo y Gram positivo, respectivamente.

Escherichia coli es una Gram negativa, anaerobia facultativa, pertenece a la microbiota presente en el colon humano y de los animales. Por otro lado, *Staphylococcus aureus*, es una Gram positiva, anaerobia facultativa, es parte de la microbiota de la piel y las membranas mucosas en animales y seres humanos. Estas bacterias frecuentemente originan la contaminación bacteriana en los alimentos de origen bovino (Ray & Bhunia, 2010), además pueden adaptarse rápidamente a la presión selectiva de los antibióticos generando resistencia. La contaminación de alimentos por bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, puede ocurrir directamente desde los animales, los cuales pueden estar infectados, o puede resultar de la manipulación o manejo inadecuado de alimentos durante su procesado, almacenamiento o comercialización, que



permiten el crecimiento del microorganismo y la producción de sus enterotoxinas (Nayarit *et al.*, 2016).

El estudio de la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas procedentes de los alimentos cárnicos, tiene especial interés dado la posibilidad de transferencia de los genes de resistencia a antimicrobianos entre los microorganismos de igual o diferente género e inclusive entre especies (Medina, 2011), pudiendo llegar estos microorganismos al ser humano a través de la cadena alimentaria.

Por tal razón esta investigación tuvo los siguientes objetivos:

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas de carnes de bovinos expendidos en los mercados Santa Bárbara, Las Mercedes y Túpac Amaru de la ciudad de Juliaca.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el recuento de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en carne de bovinos expendidos en los mercados Santa Bárbara, Las Mercedes y Túpac Amaru de la ciudad de Juliaca.
- Evaluar la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* frente a ampicilina, ciprofloxacina, cefuroxima y *Staphylococcus aureus* frente a penicilina, clindamicina y eritromicina, aisladas e identificadas en carnes de bovino expendidas en mercados de la ciudad de Juliaca.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Moreno *et al.* (2018), indican que la transferencia de la resistencia antimicrobiana se produce en forma bidireccional entre el humano y el animal, evidenciándose que *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* y *Streptococcus* sp son bacterias comunes en las infecciones resistentes a los antibióticos en pequeños animales y sus genes de resistencia de mayor prevalencia son gen *blaTEM*, *CTX-M-1*, *mecA* y clones como Tn5405-like, por otro lado, Villanueva & Morales (2017), en bacterias causantes de mastitis clínica en bovinos, identificaron a *Staphylococcus aureus* (24.84% \pm 6.76), *Streptococcus agalactiae* (15.92% \pm 5.72), *Enterobacter aerogenes* (6.37% \pm 3.82), *Enterobacter cloacae* (3.82% \pm 3.00), *Bacillus* sp (3.18% \pm 2.75), *Bacillus subtilis* (3.18% \pm 2.75), *Citrobacter freundii* (3.18% \pm 2.75), y *Staphylococcus aureus* presentó resistencia a penicilina 65.63% y *S. agalactiae* a cefalexina 56%, penicilina 56% y cefalotina 52%, asimismo, Cortez (2017), reporta que en la carne molida comercializada por supermercados del distrito de Miraflores (Lima), las enterobacterias aisladas en un 28.94% resultaron resistentes a los antibióticos cefotaxima (CTX) 30 μ g, ceftazidima (CAZ) 30 μ g, ceftriaxona (CRO) 30 μ g, aztreonam (ATM) 30 μ g y CPD, cefpodoxima (CPD) 10 μ g y *Staphylococcus* spp., el 13.64% fueron meticilino-resistentes, por otro lado, Flores (2017), menciona que de las cepas de *Escherichia coli* aisladas del proceso de beneficio bovino, el 93% fueron sensibles a sulfametoxazol - trimetropin, el 92% a cloranfenicol, el 76% a gentamicina, el 75% a ciprofloxacina, el 75% para amikacina y el 72% a tetraciclina, la resistencia fue mayor



para cefalexina 93%, intermedios a ácido nalidixico 44%, ampicilina 39% y estreptomicina 54%.

Según Nayarit *et al.* (2016), las cepas de *Salmonella* spp. presentes en la carne de res que se expende en la capital mexicana, serotipos Lomita, Derby, Senftenberg, Javiana y Cannstatt, que presentaron alta resistencia a ampicilina, carbenicilina, tetraciclina y trimetoprim-sulfametoxazol y cinco cepas fueron no tipificables y 14 mostraron multiresistencia, por su parte, en otro estudio Quesada *et al.* (2016), indican que *Salmonella typhimurium* y *Salmonella enteritidis* obtenidos de alimentos de origen animal, fueron resistentes a los antibióticos ácido nalidíxico, estreptomicina, tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina, trimetoprim/sulfametoxazol, gentamicina, ciprofloxacina y cefalosporinas, adicionalmente el estudio realizado por Zotta *et al.* (2016), manifiestan que las muestras de vísceras bovinas presentaron 84.2% de desarrollo para bacterias coliformes y no presentaron ningún factor de virulencia que los caracterice como STEC o como *Escherichia coli* O157 y las menudencias de pollos presentaron el 95.5% de bacterias coliformes, sin genes que codifican a las toxinas Shiga 1 y 2 (*stx1*, *stx2*) y el gen *rfbO157*, también se reporta el estudio de Sánchez *et al.* (2015), quienes en 10 clínicas encontraron bacterias potencialmente patógenas multiresistentes a amoxicilina y cloranfenicol que pertenecían a 8 de 16 especies aisladas, entre ellas *Staphylococcus intermedius*, *Acinetobacter baumannii*, *Pantoea agglomerans*, *Klebsiella pneumoniae* y *Burkholderia cepacia*, procedieron del piso de consulta externa y la mesa de examen clínico.

Ávila & Ramos (2013), reportaron que los hígados de bovino poseen carga de bacterias aerobias mesófilas entre 72×10^2 UFC/g y 96×10^4 UFC/g, coliformes fecales entre 8 NMP/g y 980 NMP/g, y los pulmones las bacterias aerobias mesófilas se



encuentran entre 59×10^2 UFC/g y 23×10^4 UFC/g y coliformes fecales entre 6 NMP/g y 492 NMP/g, por otro lado, según Reyes *et al.* (2013), *Escherichia coli* O157:H7 aislada de camales de bovinos sacrificados presentaron resistencia a cefalotina con un 75%, carbencilina con 62.5%, amikacina con 50% y gentamicina con 50% y el 16.7 % de las cepas presentaron los genes eae, stx1 y stx2 y el 66.7 % los gen eae y stx2, a su vez Cardona *et al.* (2013), reportaron en casos de onfalitis en terneros *Staphylococcus aureus* (22.5%), *Escherichia coli* (22.5%), *Staphylococcus sp.* (15%), *Klebsiella sp.* (9.68%), *Proteus vulgaris* (9.68%), *Pseudomona sp.* (6.46%), *Proteus mirabilis* (3.23%), *Enterobacter sp.* (3.23%), *Chryseobacterium meningosepticus* (3.23%), *Alcaligenes sp.* (1.40%), *Citrobacter koseri* (1.40%), las Gram positivas fueron sensibles a la oxacilina, eritromicina, clindamicina y vancomicina, pero resistentes a la gentamicina, norfloxacin y trimetoprim-sulfametoxazol, asimismo, Medina (2011), al administrar en conejos con doxiciclina originó un cambio en las poblaciones de *Escherichia coli* predominantes en la microbiota intestinal de los conejos, favoreciendo un fenotipo de resistencia predominante a doxiciclina y eritromicina, debido a la mutación de genes *gyrA* y *parC* que revelaron la resistencia a fluoroquinolonas.

López *et al.* (2015), determinaron que el 100% en productos cárnicos presentó *Staphylococcus aureus* donde el 72% de los expendios presentaron recuentos > 100 UFC/g, y el 27% < 100 UFC/g, por otro lado, Vargas (2015), encontró en carne bovina recuentos de bacterias aerobias mesófilas de 1×10^6 UFC/g y 2×10^8 UFC/g, 100% de muestras positivas a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, a su vez Púa & Navas (2014), determinaron en carnes de cerdo la presencia de *Escherichia coli* en el 85.71% de las muestras y en el 85.71% de las de las muestras de utensilios y de superficies de contacto, *Salmonella spp.* En un 85.71% de las muestras por tanto presentan deficientes



condiciones sanitarias, asimismo, Junod (2010), analizó aislados de *Salmonella enterica* de origen animal y de alimento, de 68 cepas aisladas de origen animal y alimentario, se identificaron 9 serovares, el 54.68% de las cepas fueron resistentes a 1 o más antibióticos, la resistencia a múltiples drogas fue observada en el 20.5% de las cepas analizadas y el antibiótico que presentó la mayor tasa de resistencia fue oxitetraciclina, en un estudio similar, San Martín *et al.* (2002), registraron entre las bacterias aisladas de mastitis bovina, Gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp y *Staphylococcus* coagulasa negativo, presentaron altos porcentajes de resistencia > 25% a amoxicilina, ampicilina, penicilina, estreptomina y lincomicina y las cepas de *Escherichia coli* presentaron una mayor susceptibilidad, no observándose resistencias superiores al 25%.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 La carne de bovinos

Las carnes rojas, son aquellas procedentes de vacunos, búfalos, cerdos, ovejas, cabras, llamas, entre otras especies, posee condiciones muy favorables para el desarrollo de los microorganismos por su alto contenido de proteínas, bajo en carbohidratos, una actividad agua (aw) de 0.99, vitamina muscular de 60 µg/g como son la tiamina, riboflavina, niacina, ácido fólico, ácido pantoténico, B6, B12 y biotina (ICMSF, 1998).

Los bovinos poseen un tejido muscular revestido de membranas protectoras y miofibrillas que se encuentran dentro del sarcolema, que en el proceso de beneficio se destruye posteriormente desaparece por completo, asimismo, contienen sustancias inhibitoras entre ellas las inmunoproteínas muy específicas en su actividad, pero con baja actividad antimicrobiana, y no suministran protección práctica alguna (Mossel, 2003).

Los animales sin excepción, transportan inmensa carga microbiana, entre ellas bacterias, mohos y levaduras, las que se encuentran en el cuero, los pelos y las pezuñas de los bovinos, que luego de su faenamiento, son transmitidos a la carcasa, en el camal, el estiércol y el contenido intestinal son las fuentes microbianas principales que aparece en el tejido muscular; sin embargo, también pueden proceder de los pisos, paredes, mesadas, cuchillos y manos de los operadores y trabajadores del camal (ICMSF, 1998).

La composición química de la carne bovina según el INS (2009) es la siguiente:

Tabla 1. Composición bromatológica en 100 g de pulpa de carne bovina (INS, 2009).

Parámetro	Valor
Agua (g)	75.9
Proteínas (g)	21.3
Grasa (g)	1.6
Cenizas (g)	1.1
Fósforo (mg)	208
Zinc (mg)	4.32
Hierro (mg)	3.4
Tiamina (mg)	0.03
Riboflavina (mg)	0.13
Niacina (mg)	6.82

2.2.2 Deterioro de la carne bovina

La carne es altamente susceptible a su deterioro, a su vez se constituye en un vehículo para propagar enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) (Podpecan *et al.*, 2007), en el proceso de sacrificio y el procesamiento, los tejidos comestibles están sometidos a la contaminación de diversas fuentes, que puede ser interna o externa al animal beneficiados, en animales vivos, las superficies en contacto pueden albergar muchos microorganismos, siendo la piel del animal muchas veces la fuente de



contaminación o bien las heces, debido a su carga bacteriana y en la fase de procesamiento también son susceptibles de contaminación (Datta *et al.*, 2012), siendo ello no deseable ya que causa enfermedades gastrointestinales (McDonald y Sun, 1999).

Por su alto contenido hídrico y muchos nutrientes esenciales para el ser humano, la carne es uno de los alimentos más perecederos, dichas alteraciones se originan a causa de la oxidación, los daños físicos y los cambios de color, otro indicador del deterioro de la carne es el incremento del crecimiento indeseado de microorganismos, originando olores desagradables y la formación de limo, terminando en un producto no apto para el consumo humano desde el punto de vista microbiológico (Ercolini *et al.*, 2006), la alteración de los parámetros organoléptico están relacionados con el aprovechamiento de nutrientes por los microorganismos en la carne, entre ellos los azúcares, los aminoácidos libres, terminando en la liberación de metabolitos volátiles indeseables (Ercolini *et al.*, 2009).

a. Bacterias cárnicas

La carne es una fuente rica en nutrientes, los cuales son propicios para la proliferación microbiana, entre ellos degradadores y patógenos, como *Escherichia coli* O157 y no-O157, *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*, ante la creciente demanda de productos cárnicos con calidad sanitaria, organoléptica y nutricional, se desarrollaron tecnologías tradicionales o térmicas para garantizar dichas características, en especial las que no cambien las características sensoriales y nutritivas, manteniendo o mejorando la estabilidad y calidad de la carga microbiana, entre ellas se mencionan las tecnologías como las altas presiones hidrostáticas, radiación, empaques activos e inteligentes y aditivos naturales para su control (Heredía *et al.*, 2014).



La carne cruda y expandida es muy susceptible al deterioro y constituye un vehículo para la difusión de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) (Bhandare *et al.*, 2007). Como se dijo anteriormente los focos de contaminación microbiana son durante el sacrificio, el procesamiento interno o externo, las superficies en contacto con el medio ambiente, la piel del animal, y las heces; por tanto, generalmente se dará por microorganismos patógenos (Datta *et al.*, 2012).

Para determinar la calidad microbiológica de la carne bovina, se realiza la búsqueda y determinación de la carga microbiana indicadora, entre ellos no patógenos, pero su presencia indica la posibilidad de que pueden estar microorganismos patógenos (Wolffs & Radstrom, 2006), en los microorganismos indicadores se incluyen el recuento de bacterias mesofílicas viables totales, coliformes totales, enterobacterias, *Escherichia coli*, estreptococos fecales y *Aeromonas* (Algino *et al.*, 2009); aunque también se debe incluir a *Listeria* spp, enterococos y bifidobacterias (Delcenserie *et al.*, 2008).

Los microorganismos patógenos asociados a brotes por consumo de carne bovina son *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7 y no - O157 productoras de toxina shiga, *Listeria*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens* y *Yersinia*, donde los tres primeros son los más importantes como patógenos de la carne de res (Koohmaraie *et al.*, 2005), los microorganismos *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium* spp, son las principales para determinar la calidad de la producción de la carne, pero los patógenos cárnicos *Campylobacter* spp y *Salmonella* spp, pueden ser controlados por procesos de aplicados en la producción y optimizar la higiene en el proceso del sacrificio animal (Nørrung *et al.*, 2009), entre ellos los métodos no térmicos de control o preservación se tienen las altas presiones hidrostáticas, radiación, aplicación de compuestos naturales,



pulsos eléctricos de alta intensidad, campos magnéticos oscilantes, ultrasonido, entre otros (Chen *et al.*, 2012).

Muchas bacterias psicrótróficas de la superficie de las carnes que no proceden del intestino incluyen a *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brochothrix thermosphacta*, algunas enterobacterias y lactobacilos (Mossel, 2003). La superficie de la carne bovina puede contener *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pantoea agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Yersinia enterocolitica* (Doyle & Schoeni, 1987), *Enterococcus* (Hayes *et al.*, 2003), *Listeria* (Smith, 1996), *Salmonella*, *Campylobacter* (Zaho, 2001), *Clostridium* (Hall & Angelotti, 1965), *Streptococcus*, *Corynebacterium* (Jay, 1967), *Staphylococcus*, *Bacillus*, bacterias lácticas, mohos y levaduras (ICMSF, 1998). La calidad higiénica del faenamiento animal logra reducir la carga microbiana de las carnes, sin lograr prevenir su contaminación, y al tratar con soluciones de ácido láctico o de fosfato trisódico reducen enterobacterias y otros patógenos, si son aplicadas luego de dos horas después del sacrificio, debido a que las Gram negativas no se fijan todavía al tejido (Mossel, 2003).

2.2.3 Parámetros intrínsecos y extrínsecos

a. Parámetros intrínsecos

Son características propias de la parte integral comestible de un alimento y describen sus propiedades físicas y su composición química, como son las sustancias antimicrobianas que poseen y combaten a los microbios, pudiendo ser naturales, adicionados, y residuales. Según Jurado & Pacheco (2019), los parámetros intrínsecos son:



- **Potencial de hidrógenos o pH.** Es el logaritmo negativo de la concentración molar de los iones de hidrogeno, mide la concentración de H^+ en una solución, la acides expresa el potencial de los ácidos en la liberación de hidrogeniones. Su rango de valores oscila entre 0 y 14, donde el pH inferior a 7 es ácido, el pH 7 es neutro y el pH superior a 7 es alcalino o básico. La gran mayoría de las bacterias se desarrollan en alimentos cuyo pH sea neutro a alcalino. Usualmente en alimentos con valores de pH menores de 4.5, no poseen desarrollo bacteriano patógeno y por tanto se conservan mejor, pero podrían ser susceptible a los hongos filamentosos o levaduras (Hernández, 2016).
- **Actividad de agua (AW).** Es la relación de la presión de vapor y la presión de vapor de agua pura en un alimento, determinadas a la misma temperatura. La A_w mide el grado de aprovechamiento del agua por los microorganismos en un alimento, posee valores desde 0 hasta 1. Los alimentos muy secos tienen una A_w de próxima a 0.2; mientras que los alimentos frescos poseen valores cercanos a 0.99, pudiéndose reducir mediante el aumento de la concentración de solutos en el agua con que cuenta el alimento (Hernández, 2016).
- **Potencial de óxidoreducción o Eh.** Viene a ser la capacidad que posee el sustrato para ganar o perder electrones y consiste en la reacción en la que ocurre un traslado de electrones dentro de las sustancias químicas. Cuando se liberan electrones se refiere a la oxidación y cuando retienen se refiere a una reducción. Los microorganismos poseen una tolerancia o necesidad específica de oxígeno en el ambiente se establecen. Los ambientes oxidados otorgan condiciones aeróbicas y tienen un Eh medido en milivoltios (mV) positivos, al contrario, los ambientes reducidos otorgan condiciones anaerobias y se mide en mili voltios negativos.



Según la necesidad de oxígeno, los microorganismos pueden ser: aerobios obligados, anaerobios facultativos, anaerobios obligados y microaerófilos (Hernández, 2016).

b. Parámetros extrínsecos

Son características derivadas de las condiciones físicas del ambiente donde se almacena o produce cualquier alimento o todo producto, entre ellos se citan a la temperatura y la humedad relativa, principalmente. Según Condori (2014), los parámetros extrínsecos son:

- **La temperatura.** Es el factor medioambiental que origina mayor afecto en el crecimiento de los microorganismos, a pesar de tener intervalos muy amplios entre -8° a $+90^{\circ}$ °C, su temperatura óptima para la gran mayoría de los microorganismos patógenos es de 37° °C. La temperatura perturba el desarrollo de la fase latente, la velocidad de crecimiento, las exigencias nutricionales y la composición química y enzimática de todas las células. Los efectos que originan la congelación y refrigeración varían según el microorganismo en cuestión, de las condiciones de tiempo y de la temperatura de almacenamiento, ya que muchos mantenerse viables por largo tiempo en alimentos congelados. Entre los patógenos, *Staphylococcus aureus* es el más resistente, ya que puede sobrevivir a 60° °C por 15 minutos (In Food Quality, 2019).
- **La humedad relativa.** Posee influencia directa en la actividad de agua del alimento y dependerá de la atmósfera con humedad relativa alta, ante el incremento de la actividad de agua aumentará el deterioro debido a los microorganismos. Se cuenta con una regla general que se menciona “Cuanto



mayor será la temperatura de almacenamiento, menor será la humedad relativa y viceversa. Alterando los gases de la atmósfera es viable retardar la multiplicación de los microorganismos en los alimentos sin reducir la humedad relativa” (In Food Quality, 2019).

2.2.4 Contaminación bacteriana de los alimentos

Fuster (2006), manifiesta que es un peligro latente las contaminaciones cruzadas y la OMS registró que el 25% de los casos de infección alimentaria estuvieron asociados a las contaminaciones cruzadas. Su origen se debe a malas prácticas higiénicas (1.6%), la existencia de la contaminación cruzada (3.6%), el proceso y las condiciones del almacenaje en instalaciones inadecuadas (4.2%), la presencia de superficies contaminadas (5.7%) y la contaminación de las personas como los operarios y expendedores. Asimismo, las materias primas y/o ingredientes contaminados que se agregan a un producto también pueden contener patógenos originando brotes de toxinfeción alimentaria.

Armendáris (2008), manifiesta que una contaminación cruzada, se origina cuando se manipulan alimentos crudos y cocidos sin separar ni diferenciación de utensilios, lo cual se observa en los manipuladores de alimentos, y se constituyen en un problema de actitud y concientización en los manipuladores. Aparte de las superficies y útiles de trabajo, las manos de los manipuladores son las responsables del origen de la contaminación cruzada.

a. Bacterias aerobias mesófilas

Son utilizados para monitorear si son adecuados el conjunto de procedimientos de las Buenas Prácticas de Manufactura, ya que alimentos perecederos poseerán recuentos



altos de bacterias aerobias mesófilas, lo que representará el contenido microbiano de materiales crudos e ingredientes, la eficiencia del procedimiento de elaboración, las condiciones de higiene del equipo y utensilios, así como la relación tiempo – temperatura de almacenamiento y de su distribución, no encontrándose elevado por la condición de higiene del producto, sino por la vida útil del mismo (ANMAT, 2004).

Las bacterias aerobias mesófilas, son microorganismos que se desarrollan en presencia de oxígeno a temperaturas entre 20 °C y 45 °C y máximas de 30 °C y 40 °C, y estima la microflora total sin especificar a los tipos de microorganismos, asimismo indica la calidad sanitaria del producto analizado, además de las condiciones higiénicas de la carne y la forma de manipulación durante su elaboración, y su recuento bajo no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de igual modo un recuento elevado no significa presencia de microorganismos patógenos (ANMAT & MINSA, 2014).

b. *Escherichia coli*

Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, pertenece a la familia Enterobacteriaceae, fermentan la glucosa y la lactosa, generalmente son móviles, pero existen inmóviles, presentan fimbrias o pili, para su adherencia a las superficies mucosas del hospedero (Croxen *et al.*, 2013). Es una bacteria de la microflora de humanos y animales, algunas patógenas causantes de diarrea o *Escherichia coli* diaerrogénicas, y que según sus factores de virulencia y propiedades fenotípicas existen *Escherichia coli* enteropatogénica (EPEC), enteroagregativa (EAEC), enterotoxigénica (ETEC), de adherencia difusa (DAEC), enteroinvasiva (EIEC) y productoras de toxinas Shiga (STEC), éstas últimas se encuentran dentro del subgrupo enterohemorrágico (EHEC) (Kaper *et al.*, 2004).



La dosis infectiva capaz de ocasionar manifestaciones clínicas, es de 10 a 100 bacterias por g de alimento y dependiendo de la susceptibilidad del hospedero (Scheutz & Strockbine, 2005), sus síntomas son diarrea común, pudiéndose agravar a colitis hemorrágica, llegando a complicaciones como la infección urinaria, septicemia, meningitis, el síndrome urémico hemolítico (SUH) entre otros (Croxen & Finlay, 2009), éste último se caracteriza por una insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia (Delaquis *et al.*, 2007), la virulencia bacteriana se debe a factores propios del microorganismo, como la producción de toxinas tipo Shiga que dañan el endotelio vascular (Croxen & Finlay, 2009).

La Agencia de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos, clasificó a *Escherichia coli* como un microorganismo adulterante en la carne de res molida, se ha hecho evidente que las *Escherichia coli* no – O157 productoras de toxina shiga (STEC), particularmente los serogrupos O26, O45, O103, O111, O121 y O145, causan manifestaciones similares al serotipo O157:H7 (Gould *et al.*, 2013), éstos seis serotipos son adulterantes en la carne de res troceada (Almanza, 2011). El ganado bovino es reservorio para *Escherichia coli* O157 y no-O157 productoras de toxinas shiga, ya que forman parte de su flora nativa intestinal, pudiendo contaminar las canales con heces y el contacto con la piel (Gun *et al.*, 2003).

Scallan *et al.* (2011), reportaron aproximadamente 63,153 casos de ETAs por año en Estados Unidos originados por STEC O157 y las cepas no – O157 con 112,752 casos de enfermedades. Estas cifras de casos hacen que sea registrado como de alto impacto en la seguridad e inocuidad alimentaria como en la industria de carne bovina (Callaway *et al.*, 2003). Por lo que *Escherichia coli* O157:H7 es catalogado como el patógeno contaminante de alimentos más peligroso para la salud humana.



c. *Staphylococcus aureus*

Es un microorganismo diseminado en el ambiente, posee características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos, representa un grave problema de salud, por su distribución a nivel mundial, la morbimortalidad es considerable a nivel comunitario e intrahospitalario, originando enfermedades infecciosas y resistentes a la meticilina (MRSA), dicha resistencia se origina por selección natural a través de mutaciones producidas al azar, la aplicación de una presión selectiva a una población, el abuso o la utilización de antibióticos, y por sus características genéticas se convirtió en una de las más importantes en la clínica y ETAs (Zendejas *et al.*, 2014). El género *Staphylococcus* son bacterias Gram positivas, con diámetros entre 0.5 y 1.5 micras, semejantes a un racimo de uva (Harris *et al.*, 2002), se han reportado 35 especies conocidas con 17 subespecies, afectan a los mamíferos, posee una fácil propagación, con frecuencia entre humano – animales y viceversa (Fox *et al.*, 2007).

Las ETAs se originan por el consumo de alimentos impregnados con toxinas microbianas o con una o varias bacterias patógenas, por el contacto del alimento con los manipuladores, y la presencia de agentes patógenos potenciales ubicados en diversos ambientes, como donde hay presión osmótica elevada y humedad reducida, por lo que habita en las secreciones nasales (Tortora & Funke, 2007) del portador, a su vez, la contaminación puede ser endógena o en algún punto de su obtención (Parrilla *et al.*, 1993). Es capaz de producir toxinas y producir enzimas extracelulares, provocando rigurosas intoxicaciones alimentarias según la cantidad ingerida de alimento (Martínez, 2005). Las toxinas están divididas en la Tabla 2.

Tabla 2. *Staphylococcus aureus*: toxinas y efectos biológicos (Martínez, 2005).

Toxinas	Efecto biológico
Citotoxinas (α , β , δ y γ leucocidina de PV)	Mecanismos poro – perforador sobre las membranas de leucocitos, eritrocitos, macrófagos, plaquetas y fibroblastos.
Toxina exfoliativa (ETA y ETB).	Proteasas que rompen los puentes intercelulares en el estrato granuloso de la epidermis.
Enterotoxinas (A – E, G – I).	Súper antígenos (estimula la proliferación de células T y la liberación de citosinas): estimula la liberación de mediadores químicos en los mastocitos, aumentando el peristaltismo.
Toxina del síndrome del choque tóxico TSST – 1.	Súper antígenos (estimulan la proliferación de células T y la liberación de citosinas); produce extravasación o la destrucción de las células endoteliales.

La importancia patogénica de *Staphylococcus aureus* en humanos se incrementó debido a su resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos y los deficientes cuidados médicos (Vasconcelos & De Souza, 2010), desde el punto de vista genómico, posee importancia los factores de virulencia, de resistencia o de adaptación que posee como parte de su evolución natural, en especial los elementos genéticos móviles (EGM), utilizados en la transferencia de información genética y determinar su resistencia contra antimicrobianos (De Colsa, 2011). El daño que originan no solo se debe a los EGM, sino a sus enzimas extracelulares que son usados para la penetración y la invasión de los tejidos, se adiciona su capacidad de adherirse a los tejidos del huésped y materiales protésicos, formando biopelículas (Gordon & Lowry, 2008) ayudando a sobrevivir sobre los plásticos como los catéteres intravasculares. La respuesta de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos, es que genes implicados en resistencia y de virulencia, como los son los



plásmidos, transposones y profagos, además de poseer transferencia horizontal de genes con otras bacterias (Chambers & De Leo, 2009).

Según los análisis genéticos de *Staphylococcus aureus* proceden de las cepas Mu50 y N315 y existen diez secuencias genómicas completas adicionales provenientes de otras cepas de *Staphylococcus aureus*, su cromosoma es circular y de 2.8 – 2.9 Mbp de tamaño y G+C de 33% (Madigan, 2003) y poseen genes que codifican las toxinas, como las TSST – 1 y la enterotoxina estafilocócica. Por otro lado, *Staphylococcus aureus*, resistentes a meticilina, biosintetiza proteínas de unión a penicilina tipo 2a (PBP2a) (Llarrull *et al.*, 2009), se unen a los betalactámicos con actividad antiestafilocócica (Velázquez, 2005), inhibiendo la síntesis de peptidoglicano, dicha proteína lo codifica el gen *mecA*, asimismo posee un complejo genético denominado *ccr* que codifica las recombinasas *ccrA*, *ccrB* y *ccrC*, que permiten la movilidad del SCCmec de las cepas estafilocócicas (De Colza, 2011).

2.2.5 Legislación sobre la calidad de la carne de bovinos

García (1996), indica que un estándar microbiológico es un razonamiento que conlleva al cumplimiento de la ley, las especificaciones, los límites, las pautas y los criterios establecidos por los organismos reguladores. El contenido microbiano se relaciona con la garantía sanitaria y la conservación de la calidad de los alimentos frescos, por ello se cuenta con estándares microbiológicos para todo alimento, los cuales poseen los márgenes de tolerancia que se originan a consecuencia de las inexactitudes durante la toma de muestras y en los análisis de laboratorio. A parte de ellos, la legislación peruana cuenta con las siguientes normas vigentes:



Ley N° 27657. Art. 25 (a) de la Ley del Ministerio de Salud. La DIGESA: “Es el órgano técnico normativo (del MINSA) en los aspectos relacionados al rol técnico normativo de la autoridad sanitaria nacional saneamiento básico, salud ocupacional, higiene alimentaria, zoonosis y protección del ambiente”.

Decreto Legislativo N° 1062. “Ley de inocuidad de los alimentos”.

Resolución Ministerial N° 222-2009/MINSA. “Norma sanitaria para el procedimiento de atención de alertas sanitarias de alimentos y bebidas de consumo humano”.

Resolución Ministerial N° 245-2009/MINSA. “Norma técnica de salud para acreditar inspectores sanitarios de alimentos de consumo humano”.

Ley N° 29571. “Código de protección y defensa del consumidor”.

Decreto Supremo N° 007-98-SA. “Reglamento sobre vigilancia y control sanitario de alimento y bebidas”.

Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA. “Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humano”.

Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA. “Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas”.

Resolución Ministerial N° 282-2003-SA/DM. “Reglamento sanitario para el funcionamiento de mercados de abasto”.

Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01. “Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano” (Tablas 3, 4 y 5).

Tabla 3. Criterios microbiológicos de la carne cruda de bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, camélidos, equinos, otros; refrigerada o congelada (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobias mesófilas (30° C)	2	3	5	2	10 ⁵	10 ⁷
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia / 25 g	---

Tabla 4. Criterios microbiológicos de las vísceras de aves, bovinos, ovinos y caprinos; refrigerada o congelada (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobias mesófilas (30° C)	2	3	5	2	10 ⁵	10 ⁷
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	50	5 x 10 ²
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia / 25 g	---

Tabla 5. Criterios microbiológicos de carnes crudas picadas y molidas (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobias mesófilas (30° C)	2	3	5	2	10 ⁶	10 ⁷
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	50	5 x 10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia / 25 g	---
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10	2	5	0	Ausencia / 25 g	---



2.2.6 Resistencia antimicrobiana

Es la capacidad de un microorganismo de poseer resistencia a los efectos de un antimicrobiano, producida por selección natural, mutaciones o presión selectiva a una población (Abreu *et al.*, 2011), según la OMS es uno de los mayores problemas de salud pública mundial (Cifuentes *et al.*, 2014), porque se reduce la eficacia terapéutica, permitiendo la transmisión desde microorganismos infecciosos a otro, incrementando los costos en la atención de salud y amenazando la seguridad sanitaria (Galán *et al.*, 2014). La resistencia a los antibióticos involucra más cepas, nuevas especies y nuevos mecanismos, desarrollado a través de los años, con evidente uso indiscriminado e inapropiado de los antimicrobianos (Calderón & Aguilar, 2016).

La resistencia antimicrobiana es la capacidad de una bacteria de sobrevivir a la exposición de una concentración mínima inhibitoria (CMI) de cualquier antibiótico, ya sea que inhiba o elimine a otras de la misma especie (Alós, 2015); por otro lado, la multirresistencia es la resistencia de un microorganismo a la exposición de dosis terapéuticas de tres o más antibióticos, que pertenecen a diferentes grupos antibacterianos (Cabrera *et al.*, 2007).

a. Mecanismos de transferencia de ADN para la resistencia a los antibióticos

Cuando se trata de la resistencia antimicrobiana, se menciona del mecanismo y/o capacidad que posee un microorganismo para resistir y sobrevivir a los efectos de un antibiótico, disminuyendo o inactivando la acción de los agentes antimicrobianos (Fernández *et al.*, 2003). Las bacterias poseen resistencia a los antibióticos producto de mutaciones cromosomales e intercambio de material genético entre bacterias o fagos, entre los mecanismos se tienen:



- **Transformación.** Consiste en la transferencia o incorporación por una bacteria de ADN libre extracelular procedente de la lisis de otras bacterias (Moreno *et al.*, 2009).
- **Transducción.** Este mecanismo consiste en la transferencia de ADN desde un agente bacteriófago hacia el ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria (virus que infecta bacterias) (Abreu *et al.*, 2011).
- **Transposición.** Movimiento de una sección de ADN (transposon) que puede contener genes para la resistencia a muchos antibióticos y otros segmentos de ADN reunidos son útiles para la expresión de un promotor en particular (Cabrera *et al.*, 2007).
- **Conjugación.** Consiste en la permuta de material genético entre dos microorganismos bacterianos denominados donante y receptor, a través de una hebra sexual o contacto físico entre ambas (Abreu *et al.*, 2011).

La resistencia bacteriana puede ser natural o intrínseca y adquirida, la natural es específica de las bacterias, aparece ante el uso de los antibióticos y es inherente a una especie en particular (Fernández *et al.*, 2003). Es útil en la práctica para el microbiólogo y el médico, pues evita el uso de antibióticos a los cuales las bacterias son resistentes. La resistencia adquirida es un cambio en la composición genética bacteriana y es un verdadero problema en la clínica, es un fenómeno temporal porque está condicionada por factores de su medio, y/o ser permanente en el caso de presentar mutaciones o haber adquirido a través de plásmidos, transposones, integrones, u otros (Abreu *et al.*, 2011).



b. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en las bacterias

- **Bombas de reflujo o expulsión del antibiótico del interior de la célula bacteriana.** Transporta al antimicrobiano al exterior de la célula sin modificarlo, y sin acción antimicrobiana (Moreno *et al.*, 2009), mediante bombas de expulsión dependientes de energía (Abreu *et al.*, 2011).
- **Modificación o inactivación del antibiótico mediante enzimas hidrolíticas.** Mecanismo común de resistencia adquirida determinado por la producción de enzimas que hidrolizan al antimicrobiano (Cordiés *et al.*, 1998), como las betalactamasas, enzimas que hidrolizan el anillo betalactámico de la molécula (Cabrera *et al.*, 2007).
- **Bloqueo de la penetración del antibacteriano mediante modificación del sitio activo.** La modificación del sitio de unión del antimicrobiano sufre una pérdida de la afinidad y así impide su acción (Abreu *et al.*, 2011), donde la modificación de un aminoácido originará un blanco diferente y así disminuirá la afinidad de unión por el antimicrobiano (Moreno *et al.*, 2009).

c. Mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos por tipo de modificación del sitio activo

- **Modificación de PBP (penicilin-bindingprotein).** Complejo enzimático que permite la síntesis del peptidoglicano que, si se produce la mutación del sitio de unión al antimicrobiano, no podrán actuar y genera resistencia (Moreno *et al.*, 2009).



- **Modificación ribosomal.** Los genes *erm A* y *erm B* modifican el sitio activo del ribosoma mediante metilación, y se constituye el mecanismo importante en la resistencia a macrólidos (*S. pneumoniae* y *S. pyogenes*) (Moreno *et al.*, 2009).

- d. Variación de la permeabilidad de la membrana citoplasmática bacteriana.** Cambios en el diámetro y/o número de porinas, así se pueden bloquear el ingreso del antimicrobiano a la bacteria y alcanzar el núcleo celular (Cordiés *et al.*, 1998). Importante en Gram negativas, ya que poseen porinas que permiten o impiden el paso de moléculas hidrofóbicas (Abreu *et al.*, 2011).

- e. Biofilmes.** Protegen a las bacterias de la luz ultravioleta, la deshidratación, la acción de los antibióticos, los mecanismos de defensa del organismo como la fagocitosis y otras amenazas ambientales (Abreu *et al.*, 2011)

- f. Expresión incrementada del sitio blanco.** Presente en micobacterias, debido a la duplicación génica a las mutaciones de los promotores implicados en la transcripción de estos genes (Cabrera *et al.*, 2007).

El INS (2002), recomienda la utilización de los siguientes antimicrobianos para evaluar su respuesta frente al crecimiento bacteriano (Tabla 6):

Tabla 6. Diámetros de halos de inhibición de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* frente a los antibióticos (INS, 2002).

Grupo	Antimicrobiano	Contenido del disco	Diámetro en mm		
			Resistente	Intermedio	Sensible
<i>Enterobacterias (Escherichia coli)</i>					
Penicilinas	Ampicilina	10 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17
Quinolonas	Ciprofloxacina	5 µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21
Cefalosporinas	Cefuroxima	30 µg	≤ 14	15 – 22	≥ 23
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Penicilinas	Penicilina	10 Unid	≤ 28	--	≥ 29
Lincosamina	Clindamicina	2 µg	≤ 14	15 – 20	≥ 21
Macrólidos	Eritromicina	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23

d. Impacto de la resistencia en la salud pública

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema social, político y económico, donde los antimicrobianos pierden eficacia, aparecen bacterias panresistentes, las cuales se diseminan de manera incontrolada mediante la transferencia de genes de resistencia llegando a entornos no clínicos y se pronostica que al 2050 habrá más defunciones por infecciones bacterianas que por cáncer (Quesada *et al.*, 2016). Este problema es global y compleja, ya que existen microorganismos resistentes en humanos, animales, alimentos y el medio ambiente, todo iniciando desde el uso de antimicrobianos, propagándose por todo el mundo, impactando la salud pública y la economía de los países, siendo la principal causa la acelerada prescripción inadecuada de antibióticos en la atención de salud pública, en el ganado, propagando genes de resistencia en el medio ambiente. En Latinoamérica se considera realizar la vigilancia epidemiológica de enfermedades y evaluar la resistencia a los antibióticos específicamente, debido a la gran variedad de paisajes geográficos, climas y diversidad biológica (Dangles *et al.*, 2016), a



pesar de tener muchas similitudes en los países latinoamericanos, las viviendas y el saneamiento son inadecuados, estos factores acelerarían la propagación de patógenos, genes resistentes de persona a persona y en el medio ambiente (Ramón *et al.*, 2018).

En los últimos años se observó la emergencia y la diseminación de nuevos mecanismos de resistencia a los antibióticos, en el año 2016, se identificó el gen *mcr-1* que otorga resistencia a colistina, originando una alerta epidemiológica de la Organización Panamericana de Salud – OPS (OPS / OMS, 2018), pero anteriormente prevaleció en *Escherichia coli* y *K. pneumoniae* entre 2011 y 2014 en China, encontrándose el gen *mcr-1* en 16 (1%) de 1322 pacientes hospitalizados, 78 (15%) de 523 muestras en carnes crudas y 166 (21%) de 804 muestras de animales (Liu *et al.*, 2016), en Latinoamérica se aislaron *Escherichia coli* y *Salmonella*, en humanos, carnes de cerdos y aves (Scov & Monnet, 2016), donde la transferencia de genes, fue mediada por plásmidos, entre diferentes especies, en los últimos 10 años los enterococos fueron los más importantes causantes de infecciones en la atención de la salud, en los Estados Unidos se introdujo el linezolid, llamada oxazolidinonas, para tratar infecciones por enterococo resistentes a vancomicina, como también para *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (Ramón *et al.*, 2018).

Otro gen denominado *optrA*, otorga resistencia a oxazolidinonas y a fenicoles (cloranfenicol como florfenicol) en bacterias *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, en muestras humanas y animales (He *et al.*, 2016), el impacto en salud pública, manifiesta aislamientos en portadores bacterianos en muestras clínicas humanas, animales, como en cerdos y pollos para consumo, aunque no hay evidencia directa de su transmisión entre patógenos *optrA* en animales y humanos, llegando al 80 % del consumo de antibióticos principalmente en el sector animal, con la finalidad de estimular el



crecimiento en los animales, siendo un riesgo para la selección y la diseminación de resistencias, transmisibles a humanos mediante los alimentos o el medio ambiente, por tanto se debe restringir el uso de antibióticos en la ganadería, para disminuir la resistencia a los antibióticos en los humanos (Ramón *et al.*, 2018).

Pero el impacto de la restricción del uso de antimicrobianos en animales para el consumo humano disminuyó la presencia de bacterias resistentes en animales, llegando al 15% y en bacterias multirresistentes en el 24 y 32 % (Tang *et al.*, 2017), lo que se podría también presentarse en seres humanos, reduciéndose hasta en un 24 % las bacterias resistentes, requiriendo muchos estudios para establecer esta teoría, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) viene presentando directrices al uso de antibióticos de importancia médica en animales destinados al consumo humano (OMS, 2017), recomendando la preservación de la eficacia antibiótica en la medicina humana y reduciendo su administración innecesaria en animales, a pesar de ello la OMS, recomienda reducir el uso de todo antibiótico de aplicación en humanos en animales destinados al consumo humano, así como para estimular el crecimiento y prevenir infecciones sin el diagnóstico previo adecuado, debiendo ser administrados solo en animales sanos para prevenir enfermedades, si en caso haya sido diagnosticada en animales del mismo establo o población (Ramón *et al.*, 2018).

Varios países a nivel mundial optaron por reducir el uso de antibióticos en animales destinados al consumo humano, desde el año 2006 la Unión Europea ha prohibido la administración de antibióticos para la estimulación del crecimiento (EUC, 2005), por otro lado, los consumidores están demandando la producción de carne sin aplicación sistemática de antibióticos, lo cual podría tener influencia en la generación de políticas y regulaciones nacionales, por otro parte, también se debe incidir en disminuir



y/o prevenir la incidencia de enfermedades en animales, mediante el mejoramiento de la higiene en la producción, la aplicación idónea de procesos de vacunación, introducción de nuevas prácticas de estabulación y en la cría de animales, llegando al final al cambio en las prácticas de producción de alimentos, los cuales requerirán de inversión adicional y deberá de contar con el apoyo de las autoridades pertinentes (Ramón *et al.*, 2018).

S. aureus, posee la resistencia antibiótica que es mediada por el gen *blaZ*, quien expresa la síntesis de β -lactamasa, donde la proteína BlaI, quien es la proteína de unión al ADN, se acopla a la región del operón, lográndose reprimir la transcripción tanto del gen *blaZ* y el gen *blaR1-blaI*, ante la ausencia de la penicilina, la β -lactamasa se codifica a bajos niveles. Al unirse la penicilina hacia el receptor transmembrana, llamado también sensor – transductor, la proteína BlaR1 induce la autoactivación catalítica, llegando a clivarse a el mismo, la proteína BlaR1 activa, directa o indirectamente, por medio de la proteína BlaR2- cliva a BlaI sintetizando fragmentos inactivos, activándose así el inicio de la transcripción de los genes *blaZ* y *blaR1-blaI*, culminando con la β -lactamasa, que viene a ser la enzima de producción extracelular, la penicilina (Lowy, 2003).

2.2.7 Administración de antibióticos en veterinaria

Los antibióticos son compuestos químicos producidos por microorganismos con capacidad de inhibir el crecimiento o matar a un microorganismo, distinguiéndose compuestos químicos producidos por microorganismos y obtenidos por síntesis. El concepto central de la acción antibiótica es la toxicidad selectiva, es decir que inhibe en forma selectiva o destruye el crecimiento del microorganismo patógeno, sin alterar a las células del hospedador, siendo este el antibiótico ideal (Alvarado, 1999).



a. Penicilinas

Fue descubierto, cuando Alexander Fleming en el año 1928, describió la inhibición del crecimiento del estafilococo, ante la contaminación con hongos *Penicillium notatum*, a dicha sustancia se la denominó Penicilina, que no era tóxica y que poseía propiedades antisépticas. En la actualidad cepas de *P. chrysogenum* producen dicho antibiótico, en presencia de ácido fenilacético produce bencilpenicilina y en presencia de ácido fenoxiacético fenoximetilpenicilina, esta última posee resistencia a las variaciones de pH del jugo gástrico, por lo que puede ser administrada por vía oral (Pérez, 2010).

Su estructura química, está constituida por el ácido 6-aminopenicilánico formado por un anillo tiazolidina unido a un anillo betalactámico y un grupo carboxilo (Pérez, 2010). La penicilina G o Bencilpenicilina, ejerce un efecto bactericida, es más activo cuando las bacterias están en fase de multiplicación, es decir su acción máxima la desarrollan en microorganismos jóvenes. La bencilpenicilina es activa frente a Gram positivos: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium pyogenes* y *C. renale*, *Actinomyces bovis*, *Leptospira* sp., *Erysipelotrix rhusiopathiae*, *Clostridium tetani*, *Cl. perfringens*, *Cl. chauvei*, *Cl. hemoliticum*, *Cl. novyi*, *Cl. septicum*, y *Bacillus anthracis* (Pérez, 2010). En su mecanismo de acción, interfieren la síntesis de peptidoglicanos de la pared celular bacteriana, inhibiendo la enzima de transpeptidación, necesarios para la formación de la pared microbiana (Pérez, 2010).

b. Ampicilinas

Antibiótico betalactámico, semisintética de amplio espectro, dentro de las penicilinas (Alvarado, 1999). La ampicilina es bactericida contra Gram positivos y Gram negativos, es activa contra meningococos, gonococos y *Listeria monocytogenes*.



Enterococos, *Haemophilus* neumococos, meningococos, gonococos y especies de *Clostridium* y *B. fragilis* (Alvarado, 1999).

c. Clindamicina

Antibiótico extraído del hongo *Streptomyces lincolnensis*, posee un espectro reducido con actividad antimicrobiana similar a los macrólidos, es semisintético y modificado por la estructura de la Lincomicina, por sustitución de un grupo hidroxilo por un átomo de cloro en el carbono 7 de la cadena lateral (Pérez, 2010). Poseen espectro reducido, activos frente a microorganismos Gram positivos, como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Str. viridans*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus anthracis*, *Mycoplasma*, *Dyplococcus pneumoniae*, *Clostridium (tetani, perfringens, welchii)*, *Actinomycetes*, *Nocardia*, entre los más susceptibles (Pérez, 2010).

Se unen a la sub-unidad ribosomal 50S donde inhiben la unión del aminoácido del ARN soluble al complejo mensajero del ribosoma, bloqueando la síntesis proteica (Pérez, 2010). Entre los usos terapéuticos, las lincomicinas están indicadas para uso en perros, gatos, cerdos y aves. En perros y gatos están indicados para el tratamiento de infecciones estafilocócicas crónicas y en infecciones agudas por anaerobios. Debido a que ambos antibióticos se acumulan en el hueso, ellos han sido utilizados en osteomielitis y artritis infecciosa, infecciones superficiales de la piel, heridas, abscesos, osteomielitis y enfermedad periodontal, polimiositis causada por *T. gondi* en perros, en cerdos, para prevenir o tratar la disentería y las infecciones por micoplasma. En bovinos, lincomicina se puede utilizar en el tratamiento parenteral de las mastitis agudas producidas por estafilococos o por estreptococos, administrándola en dosis de 10 mg/kg una vez al día (Pérez, 2010).



d. Eritromicina

Estructuralmente, la eritromicina posee un anillo lactona de 13 carbonos y cadenas laterales de azúcares. Son producidos por *Streptomyces* (Pérez, 2010). Los macrólidos son principalmente activos frente a bacterias Gram positivas. Son utilizadas en infecciones producidas por estafilococos en casos de resistencia a penicilina o para evitar reacciones de hipersensibilidad. La Eritromicina es el antibiótico más activo frente a *Staphylococcus* (Pérez, 2010).

Los macrólidos actúan como bacteriostáticos o bactericidas según la concentración y el germen. En general son bactericidas en los gérmenes muy sensibles y bacteriostáticos en los menos sensibles. El mecanismo de acción de los macrólidos consiste en el bloqueo de la síntesis proteica de los microorganismos, fijándose a la sub – unidad ribosomal 50S, donde se transfieren los aminoácidos del ácido nucleico soluble a la proteína, de este modo inhiben la formación de la cadena polipeptídica (Pérez, 2010).

e. Ciprofloxacina

Es una fluoroquinolona que posee actividad bactericida y actúa inhibiendo a la enzima DNA girasa, la cual es esencial en la duplicación, transcripción y reparación del DNA bacteriano. Posee actividad antimicrobiana en *Citrobacter jejuni*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (cepas productora y no productora de lactamasas beta), *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella*, *Salmonella*, especies de *Vibrio*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Yersinia enterocolitica* (Goodman & Gilman, 2012).



De la dosis administrada, el 80% es absorbida vía oral, al consumirlos con los alimentos retardan su absorción, pero no la disminuyen; la máxima absorción se logra entre 1 a 2 horas después de su administración. Se distribuye en todo el organismo y sólo una porción se articula a las proteínas plasmáticas y se alcanza concentraciones altas en piel, músculo, grasa, cartílago y hueso. Su metabolismo se lleva a cabo en el hígado, se elimina vía renal y su vida media es de aproximadamente 4 horas (Medicamecum, 2013).

f. Cefuroxima

Es una cefalosporina de segunda generación de amplio espectro, posee resistencia a las penicilinasas, confiriendo efectividad contra *Neisseria gonorrhoeae*. Está indicado para tratar infecciones óseas y articulaciones, entre ellas la artritis séptica, la osteomielitis, en casos de profilaxis en fracturas expuestas y cirugías en rodilla y cadera, infecciones de vías urinarias, cistitis, uretritis, infecciones en pacientes inmunocomprometidos y profilaxis en cirugía general, entre otras afecciones (Palomino de la Gala, 2012).

Cefuroxima posee actividad antibiótica sobre bacterias Gram positivas, y son menos activas en contra de cocos Gram positivos en comparación con las de primera generación, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y estreptococos beta – hemolíticos. No es efectiva sobre *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* meticilino – resistentes, *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilinas, *Listeria monocytogenes* y enterococos. Frente a las Gram negativas, las cefalosporinas de segunda generación son más activas en contra de las Gram negativas que contra las Gram positivas, siendo susceptibles *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Branhamella (Moraxella) catarrhalis*, *Enterobacter* sp, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Bordetella pertussis* y *Serratia* sp (Katzung et al., 2013).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO

Estuvo conformada por los mercados Santa Bárbara, las Mercedes y Túpac Amaru de la ciudad de Juliaca (provincia San Román y región Puno), el cual posee puestos de venta de carne bovina, porcina, ovina, entre otros. La carga bacteriana de la carne bovina y las evaluaciones de resistencia bacteriana a los antibióticos, se desarrollaron en el Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

3.2 TIPO DE ESTUDIO

La investigación fue de tipo descriptiva en razón de que se describió, caracterizó e interpretó los recuentos de bacterias mesófilas aerobias, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Fue de tipo explicativo, en razón de que se interpretó la medición de diámetros de halos de inhibición en medios de cultivo, con resultados de sensibilidad, respuesta intermedia y resistencia, tal como lo recomienda el INS (2002), por la cual *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, presentaron resistencia o sensibilidad a los antibióticos.



3.3 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño fue no experimental, en razón de que se describió y analizó los halos de inhibición bacteriana por los antibióticos recomendados por el INS (2002), también posee una característica de tipo transversal, debido a que la magnitud, la distribución de los recuentos y las pruebas de resistencia antibacteriana se determinaron durante los meses de julio a septiembre del año 2019.

3.4 RECUENTO DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS, *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus* EN CARNE DE BOVINOS

a. Frecuencia y muestreo

Las muestras analizadas fueron un total de nueve, tres en cada mercado (Santa Bárbara, las Mercedes y Túpac Amaru) y una repetición mensual entre los meses de julio, agosto y septiembre del año 2019. Los puntos de muestreo en cada mercado fueron elegidos al azar entre todos los expendedores generalmente señoras que se dedican a la venta de carne bovina.

Las carnes de bovino en cantidades de 500 g fueron colocadas en bolsas estériles y herméticas marca zip lock (SENASA – PERÚ, 2015), a continuación, se rotularon indicando el mercado, la fecha y hora de muestreo, luego se colocó en una caja mediana de tecnopor condicionadas con bolsas de hielo para mantenerlas a 4 °C aproximadamente. De inmediato las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno, donde se realizaron los recuentos y evaluación de la susceptibilidad antibiótica.



b. Recuento de bacterias aerobias mesófilas: Método de recuento en placa.

Se pesaron 10 g de carne y se colocaron en un matraz conteniendo 90 ml de agua peptonada al 0.1% (1000 ml de agua destilada, 10 g de peptona y 5 g de cloruro de sodio) debidamente esterilizado. Se agitó tratando de cubrir toda la muestra con el agua peptonada, obteniéndose la dilución madre 10^{-1} . Para preparar las diluciones decimales, haciendo uso de una pipeta estéril se extrajo 1 ml de la dilución inicial (10^{-1}) y se llevó al siguiente tubo conteniendo 9 ml de diluyente (10^{-2}), se repitió la operación anterior, transfiriendo 1 ml de la dilución 10^{-2} a un tubo con 9 ml de diluyente, preparando así la dilución 10^{-3} . Esta operación se repitió hasta conseguir una dilución de 10^{-5} , de las diluciones decimales (10^{-4} y 10^{-5}) se tomó 1 ml de cada dilución y se depositó en placas Petri vacías, a cada placa se agregó 20 ml de Agar Plate Count (APC) esterilizado, luego se agitó suavemente realizando movimientos circulares sobre la superficie de la mesa a fin de mezclar el inóculo con el agar. Cuando el agar solidificó las placas fueron incubados a 37 °C por 48 horas, seguidamente se procedió con el conteo de colonias en aquella placa que presentaron entre 30 y 300 colonias, obteniéndose los resultados en UFC/g multiplicando el número de colonias por el factor de dilución (Laura, 2017).

c. Recuento de *Escherichia coli*: Cultivo por extensión en Agar Endo.

Las muestras de carne de bovinos previa preparación de diluciones, fueron cultivadas en agar Endo, transfiriendo 1 ml de dilución sobre la superficie de agar Endo, y con una espátula de Drigalsky esterilizada se extendió el inóculo sobre la superficie, se incubó por 48 horas a 37 °C, luego se contaron las colonias de *Escherichia coli*, en el equipo cuenta colonias. Para la identificación definitiva de *Escherichia coli*, se realizó la tinción Gram y pruebas bioquímicas de TSI, LIA, CS e indol para la identificación de la



bacteria (Campuzano *et al.*, 2015). El recuento de colonias fue similar a las obtenidas para bacterias aerobias mesófilas.

d. Recuento de *Staphylococcus aureus*: Cultivo por extensión en Agar Baird Parker.

Se pesó 10 g de muestra en una caja de Petri estéril, se adicionó 90 ml de agua peptonada estéril, se homogenizó por 10 segundos, se realizaron diluciones decimales hasta 10^{-5} en tubos de 16 x 150 mm conteniendo cada tubo 9.0 ml del mismo diluyente, a continuación, se transfirió 0.1 ml de las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} a placas Petri con agar Baird Parker, luego se extendió con una espátula de Drigalsky (método de inoculación por extensión en superficie). Las placas se mantuvieron en su posición hasta que el inóculo sea absorbido por el agar, luego de 5, se invirtieron las placas y se incubaron a 37 °C, durante 48 horas. Después de incubar, se observó el número de colonias características de este microorganismo en el agar Baird Parker (BP), las cuales se multiplicaron por la dilución, dando los resultados en UFC/g de carne.

e. Variables analizadas

- **Variable independiente:** Centro de expendio de carne bovina.
- **Variable dependiente:** Recuento de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

f. Aplicación de pruebas bioestadísticas para contrastar hipótesis

El diseño experimental fue completamente al azar, los tratamientos estuvieron conformados por los mercados de la ciudad de Juliaca (Santa Bárbara, las Mercedes y Túpac Amaru), se realizaron 9 evaluaciones, tres repeticiones por zona. Los recuentos de colonias bacterianas fueron evaluados mediante un análisis de varianza y prueba de



medias de Tukey ($P \leq 0.05$), todo con un nivel de confianza del 95%. El software estadístico donde se realizaron los análisis fue el Infostat versión estudiantil 2018.

3.5 SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus* AISLADAS DE CARNES DE BOVINO

a. Frecuencia y muestreo

Escherichia coli y *Staphylococcus aureus* previamente aisladas e identificadas de la carne de bovino, fueron expuestas a los antibióticos ampicilina, ciprofloxacina, cefuroxima y penicilina, clindamicina, eritromicina respectivamente, en tres repeticiones, cada 15 días. Las colonias para la preparación de las diluciones equivalentes al estándar 0.5 de McFarland, se colectaron al azar con el asa de siembra, la cual fue previamente esterilizada a la llama de fuego del mechero, seguidamente se realizó una punción sobre el agar al borde de la placa para que se enfríe el asa de siembra, a continuación, se colectó una pequeña porción de colonia elegida con la finalidad de no superar la turbidez del estándar, este procedimiento se repitió en cualquiera de las tres placas en que se obtuvo cultivos puros de cada bacteria.

b. Determinación de la resistencia bacteriana: Método de difusión en agar con discos de susceptibilidad o antibiograma disco – placa.

Las bacterias previamente aisladas se cultivaron en agar Müller Hinton, preparando una dilución bacteriana correspondiente al estándar 0.5 de McFarland, para ello en un tubo de ensayo de 5 ml de suero fisiológico se agregó una porción de colonia con ayuda de un asa de siembra, el tubo se disolvió en el vórtex, a continuación, se comparó con la lámina comparativa con franjas en blanco y negro con el estándar 0.5 McFarland, hasta llegar a su equivalente. Con ayuda de un hisopo estéril se colectó la



muestra de la dilución bacteriana de *Escherichia coli* o *Staphylococcus aureus*, seguidamente se realizó el proceso de cultivo sobre la placa de Müller Hinton, se esperó 5 minutos.

Para evaluar la respuesta de susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli*, se colocaron en forma aséptica los discos de ampicilina (penicilina), ciprofloxacina (quinolona) y cefuroxima (cefalosporina). Paralelamente, la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana en *S. aureus*, se colocó en forma aséptica los discos de penicilina, clindamicina (lincosamina) y eritromicina (macrólido). Los cultivos se incubaron por un tiempo de 48 horas a 37 °C. La actividad antibacteriana fue determinada con la medida del diámetro de inhibición producido alrededor de cada disco de antibiótico, los cuales fueron contrastados con los diámetros estándares para determinar la respuesta antimicrobiana del INS (2002). Cada ensayo se realizó con tres repeticiones.

c. Variables que se analizaron:

- **Variable independiente:** Antibióticos betalactámicos y macrólidos.
- **Variable dependiente:** Respuesta de susceptibilidad antimicrobiana.

d. Aplicación de pruebas bioestadísticas para contrastar hipótesis.

El diseño experimental desarrollado en la investigación fue completamente al azar. Los tratamientos fueron conformados por discos de antibióticos. No se realizaron pruebas estadísticas ya que los diámetros de halos inhibición fueron contrastados con el manual INS (2002).



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RECUENTO DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS, *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus* EN CARNE DE BOVINOS

4.1.1 Bacterias aerobias mesófilas

La carga de bacterias aerobias mesófilas en carne de bovino adquirida en tres mercados de la ciudad de Juliaca, oscilaron luego de tres muestreos (M1, M2 y M3), entre 2.18×10^6 a 2.44×10^6 UFC/g, con un promedio de 2.34×10^6 UFC/g en el mercado Túpac Amaru, seguido de 2.20×10^6 a 2.96×10^6 UFC/g con un promedio de 2.59×10^6 UFC/g en el mercado Las Mercedes y entre 2.68×10^6 a 3.04×10^6 UFC/g con un promedio de 2.81×10^6 UFC/g en el mercado Santa Bárbara (Tabla 7). Los valores calculados de coeficientes de variación (C. V.) fluctuaron entre 5.98 % y 14.70 % en los mercados Túpac Amaru y Las Mercedes respectivamente, indicando una dispersión leve de los datos entre cada uno de los muestreos con respecto a su promedio. El análisis de varianza realizado a los recuentos de bacterias aerobias mesófilas, resultó que no presentaron diferencia estadística significativa entre los tres mercados ($F=1681.33$; $gl = 2$; $P = 0.1637$) los resultados se visualizan en la Tabla 13 (Anexos).

Tabla 7. Recuentos de bacterias aerobias mesófilas en carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca, julio – septiembre 2019.

Mercados	Aerobias mesófilas (x 10 ⁶ UFC/g)			Prom	C. V. (%)
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
	Las Mercedes	2.60	2.96		
Túpac Amaru	2.18	2.44	2.40	2.34	5.98
Santa Bárbara	3.04	2.72	2.68	2.81	7.01

Límites permisibles: 10⁵ - 10⁷ UFC/g

Fuente: elaboración propia.

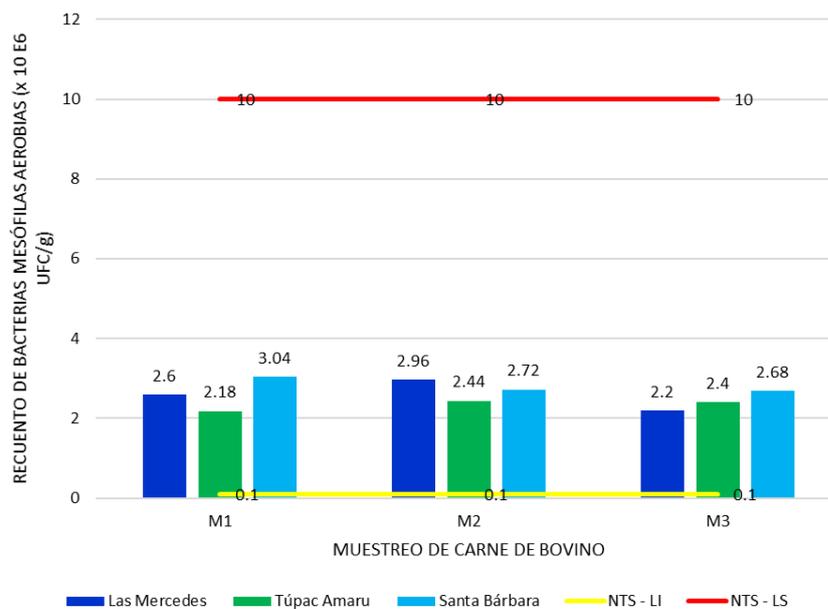


Figura 1. Recuentos de bacterias aerobias mesófilas en carne de bovino de tres mercados de la ciudad de Juliaca, julio – septiembre 2019. LI: límite inferior y LS: límite superior de la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01.

Fuente: elaboración propia.

En la Figura 1, se observa que los recuentos de bacterias aerobias mesófilas determinados en carne de bovino en los mercados de la ciudad de Juliaca, se encuentran dentro de los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos



y bebidas de consumo humano, prescritos en la Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01, la cual indica que deben oscilar entre 10^5 y 10^7 UFC/g de muestra, siendo equivalente a 0.1×10^6 UFC/g y 10×10^6 UFC/g respectivamente. Estos resultados se presentan debido probablemente a que los factores extrínsecos se manejaron adecuadamente, entre ellos el mínimo tiempo de manejo post – sacrificio, la temperatura de almacenamiento (4 a 8 °C), las condiciones de transporte y los procedimientos de venta de los expendedores de carne bovina, ya que son factores muy significantes para la persistencia de bacterias aerobias mesófilas (González *et al.*, 2014).

Las bajas temperaturas controlan el crecimiento microbiano, debido a que disminuye el metabolismo bacteriano, impidiendo su reproducción, por otro lado, *in situ* se ha observado que la carne bovina muchas veces es transportada desde los camales a los mercados en camiones debidamente acondicionados, los cuales vienen disminuyendo la carga bacteriana. Asimismo, otro factor influyente en el recuento de bacterias mesófilas aerobias, es la carne bovina refrigeradas, asimismo muchas veces son tratadas con ramos de perejil, supuestamente para que el producto se mantenga fresco y libre de carga microbiana.

Por otro lado, es corroborado por ANMAT & MINSA (2014), quienes indican que los bajos recuentos bacterianos se presentan, porque los productos cárnicos bovinos evaluados tuvieron un manejo adecuado o pasaron por prácticas de manejo apropiados desde los centros de faenamiento hasta llegar a los lugares de expendio, tales como el uso de utensilios desinfectados entre ellos los recipientes de traslado y cuchillos; por otra parte la manipulación por los operarios o trabajadores (Campuzano *et al.*, 2015), entre otros factores, ya que es un indicador de las etapas que pasó la carne hasta el momento



de la toma de muestra, por lo tanto, representa la condición higiénica de algunos de la carne bovina (ANMAT & MINSA, 2014).

Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas en carne de bovinos, fueron superiores a lo reportado por Ávila & Ramos (2013), quienes en mercados de Huancayo (Perú), determinaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas entre 72×10^2 UFC/g y 96×10^4 UFC/g en hígado de bovino, la causa de los elevados recuentos son la elevada contaminación de la carne, la deficiente manipulación en ambientes y utensilios del procesamiento y transporte, dando la posibilidad de presencia de patógenos y el inicio de la degradación de la carne (ANMAT, 2014), por lo que son considerados organismos indicadores de contaminación de materia prima, un estado sanitario poco satisfactorio, donde las condiciones de temperatura y tiempo no fueron las idóneas en el almacenamiento. Asimismo, lo confirman Ávila & Fonseca (2008), quienes manifiestan que los recuentos de bacterias aerobias mesófilas no especifican los tipos de microorganismos, pero reflejan la calidad sanitaria de la carne, sus condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas durante su procesamiento hasta la llegada de las carnes a los mercados.

Asimismo, los resultados obtenidos en la investigación, fueron inferiores a los obtenidos por Vargas (2015), quien encontró resultados de recuentos de bacterias aerobias mesófilas que oscilaron entre 1×10^6 UFC/g y 2×10^8 UFC/g de carne bovina de muestras en mercados y camal municipal del Cantón – Machala (Ecuador). Los bajos recuentos de bacterias aerobias mesófilas son a causa del reciente traslado de la carne desde los centros de beneficio a los mercados ya que por su naturaleza la carne es estéril (Corrales *et al.*, 2008), pero inmediatamente después del faenamiento, sufren un proceso de contaminación inicial, que a pesar de contar con medidas de higiene dentro del proceso



de faenamiento, muchas veces los bovinos son faenados en los pisos, utilizando utensilios poco desinfectados y sin la indumentaria en el personal que labora en los camales, también la contaminación ocurre durante el almacenamiento donde el control de la temperatura, el pH, la humedad relativa, el transporte y la higiene no son las adecuadas (Kperegbeyi & Onwunere, 2014).

La carne es portadora de nutrientes para una adecuada alimentación (FAO, 2012) y también puede portar microorganismos patógenos dependiendo de la concentración, la resistencia de cada consumidor, entre otros factores, que se constituye en un riesgo para la salud humana (Karesh *et al.*, 2002). En países desarrollados como Estados Unidos, de 235 reportes de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) registrados en el año 2007, el 16% fueron a causa del consumo de carne bovina (CDC, 2007). Una carne de calidad óptima se logra si se aplicaran las Buenas Prácticas en toda la cadena de producción, mediante operaciones diseñadas para evitar la contaminación del alimento con sustancias o agentes infecciosos indeseables, donde las bacterias requiere una especial consideración debido a la virulencia que poseen, algunas más que otras (Ray & Bhunia, 2010) y la etapa de beneficio (sacrificio o faenado) en los mataderos, esta última es considerado como la etapa clave en la cadena de producción cárnica (Duggan *et al.*, 2010), pudiéndose incrementar la carga microbiana en las operaciones de evisceración (De Busser *et al.*, 2011).

A pesar que presentan recuentos diferenciales entre las etapas de la cadena de producción, según Delgado *et al.* (2015) no encontraron diferencias significativas de conteos de microorganismos indicadores de higiene (bacterias mesófilas aerobias) en los diferentes momentos del faenado, pero con un ligero incremento en el verano al transcurrir las operaciones en el matadero, que son ausentes si se aplicara las Buenas



Prácticas al cumplir con las condiciones higiénicas apropiadas. Por su parte, Cardoso (2012), confirma que los recuentos bacterianos se determinaron en lugares donde la Buenas Prácticas no son bien aplicadas, siendo común la contaminación cruzada, ya que la presencia de moscas puede originar la recontaminación, aunándose a ello la mala desinfección de utensilios y las manos de los trabajadores.

Las bacterias mesófilas aerobias presentadas en la Tabla 3 (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01) se ubica en la categoría 2 y clase 3, esto indica que son microorganismos que no poseen riesgo directo para la salud humana y que sus recuentos manifiestan la utilidad, es decir la vida útil y la alteración. Por otro lado, se visualiza una n igual a 5 y c igual a 2, estas cifras indican que de 5 muestras colectadas en una determinada zona de muestreo se aceptan 2 que superen los valores permitidos. Por lo tanto, las bacterias evaluadas en este ítem no presentan un peligro directo a los consumidores, más bien si son indicadoras de la frescura y de las maniobras realizadas en sus diversas operaciones hasta la venta final en los mercados, y dichos alimentos se deben de consumir bien cocidos.

Frente a lo analizado, las carnes de bovino que se expenden en los mercados de la ciudad de Juliaca presentan menores recuentos de bacterias mesófilas aerobias, debido a las bajas temperaturas del clima del altiplano y el ambiente seco; pero se encuentran elevados debido a que probablemente los vendedores expenden la carne bovina expuesta al ambiente, la manipulación de los propios vendedores y los compradores, el uso de utensilios como cuchillos, afiladores, cortadoras entre otros materiales carentes de higiene. Asimismo, al momento de adquirir las muestras de carne se desconoce los mecanismos de transporte por el cual la carne bovina llegó a los mercados, en razón de que *in situ* se observó su transporte en triciclos, motocars y rara vez en camiones



frigoríficos, que es lo ideal, con la finalidad de disminuir la proliferación de microorganismos y las personas dedicadas al expendio de carnes protejan de la intemperie o mantengan la carne en refrigeradoras.

4.1.2 *Escherichia coli*

La carga bacteriana de *Escherichia coli* en carne de bovino adquiridos en tres mercados de la ciudad de Juliaca, oscilaron luego de tres muestreos (M1, M2 y M3), entre 2.05×10^6 a 2.19×10^6 UFC/g, con un promedio de 2.10×10^6 UFC/g en el mercado Las Mercedes, seguido de 2.13×10^6 a 2.36×10^6 UFC/g con un promedio de 2.23×10^6 UFC/g en el mercado Túpac Amaru y entre 2.11×10^6 a 2.29×10^6 UFC/g con un promedio de 2.20×10^6 UFC/g en el mercado Santa Bárbara (Tabla 8). Los coeficientes de variabilidad (C. V.) fluctuaron entre 3.60 % y 5.36 % en los mercados Las Mercedes y Túpac Amaru respectivamente, indicando una dispersión leve de los datos entre cada uno de los muestreos. El análisis de varianza realizado a los resultados de *Escherichia coli*, resultó que los recuentos bacterianos no presentaron diferencia estadística significativa entre los tres mercados ($F=1.33$; $gl = 2$; $P = 0.3337$), los resultados se presentan en la Tabla 14 (Anexos).

Tabla 8. Recuentos de *Escherichia coli* ($\times 10^6$ UFC/g) en carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca, julio – septiembre 2019.

Mercados	<i>Escherichia coli</i> ($\times 10^6$ UFC/g)			Prom	C. V. (%)
	Muestra	Muestra	Muestra		
	1	2	3		
Las Mercedes	2.05	2.07	2.19	2.10	3.60
Túpac Amaru	2.13	2.19	2.36	2.23	5.36
Santa Bárbara	2.19	2.11	2.29	2.20	4.11

Límites permisibles: $50 - 5 \times 10^2$ UFC/g

Fuente: elaboración propia.

Los recuentos de *Escherichia coli* determinados en carne de bovino en los mercados de la ciudad de Juliaca, superan los valores recomendados en los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, prescritos en la Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01, la cual indica que deben oscilar entre 50 y 5×10^2 UFC/g de muestra (siendo equivalente a 50 – 500 UFC/g) datos representados en la Figura 2.

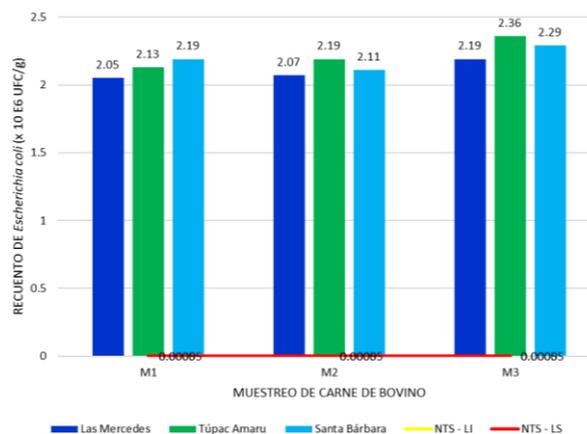


Figura 2. Recuentos de *Escherichia coli* en carnes de bovino de tres mercados de la ciudad de Juliaca, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.



Los resultados obtenidos en la investigación, fueron superiores a los obtenidos por Jiménez *et al.* (2012), quienes encontraron resultados de recuentos de *Escherichia coli* que oscilaron entre 100 y 700 UFC/g de carne bovina en muestras del mercado municipal de Culiacán Sinaloa (México). Hernández *et al.* (2007), también determinaron niveles de *Escherichia coli* en carne de camal en el municipio de Hidalgo (México) y manifiestan que representa un riesgo para los consumidores, pero a diferencia del anterior antecedente coincidió con los recuentos de la investigación. Los altos recuentos de *Escherichia coli* se deben probablemente a que la contaminación se inició en los centros de faenamiento, al tener contacto con restos de las vísceras abdominales y residuos entéricos, en razón de que es parte de la flora intestinal normal del ganado bovino (Zhao *et al.*, 2001), lo cual es corroborado por Ortega *et al.* (2009), quienes afirman que es indicadora de contaminación de origen fecal y por tanto indicador de la mala calidad del alimento, entre sus causas manifiestan su inadecuado manejo en las etapas de procesamiento o durante el expendio, y su presencia origina sospechas de presencia de otros microorganismos patógenos procedentes del mismo origen.

Los parámetros medioambientales y las formas de venta influyen en la presencia de *Escherichia coli* en la carne bovina. Al respecto Chapman *et al.* (2000), afirman que una elevada incidencia de *Escherichia coli* en carne, se presenta cuando la venta pasa de vendedores mayoristas a minoristas, hasta llegar a la venta al menudeo, donde el recuento de bacterias puede incrementarse en la superficie de la carne de bovinos, esencialmente en las estaciones de primavera y verano, donde la temperatura ambiental favorece el crecimiento bacteriano; al mismo tiempo, la carne es una excelente fuente de nutrientes y posee humedad, permitiendo la proliferación de los microorganismos patógenos principalmente bacterias (Gill & Landers, 2003).



Las condiciones ambientales de la ciudad de Juliaca, tales como las bajas temperaturas y el clima seco deben de mantener las cargas bacterianas en bajos recuentos; pero los resultados de recuentos de *Escherichia coli* obtenidos, superan los valores permitidos en la normatividad vigente, las causas son el alto contenido de proteínas y la humedad que favorecen el establecimiento de *Escherichia coli* debido a las malas costumbres de venta ambulatoria o a la intemperie, sin refrigeración, falta de higiene de manos de los expendedores al recibir monedas y con las mismas manos manipular la carne, los utensilios no desinfectados, entre otros causales.

El aislamiento de *Escherichia coli* en la carne bovina, refleja una mala calidad higiénica y sanitaria del producto, ya que está presente en el intestino del hombre y los bovinos, por tanto es considerado indicador de contaminación fecal (Jay *et al.*, 2005) y está asociado a las malas prácticas de higiene tanto de los manipuladores, el agua contaminada que se pone en contacto con la carne, la superficie de contacto, los utensilios contaminados, así como los inadecuados sistemas sanitarios (Púa & Navas, 2014), entre los serotipos bacterianos en carnes se aislaron a *Escherichia coli* O157:H7, los cuales son potenciales productores de toxiinfecciones y gastroenteritis (Ray & Bhunia, 2010).

El Altiplano Peruano posee un clima frígido, con alta radiación solar y una humedad ambiental baja, no disminuyen los recuentos bacterianos de *Escherichia coli*, en razón de que pueden sobrevivir en el medio ambiente, ya que posee una escala de crecimiento óptimo de 35 – 40 °C; por otro lado, *Escherichia coli* O157:H7 posee un intervalo de temperatura de crecimiento que varía desde los 7 – 10 ° y una máxima que oscila entre los 45 – 50 °C (OMS, 2011) y una óptima de 37 °C (ICMSF, 1996). Asimismo, Ansay *et al.* (1999) registraron que *Escherichia coli* O157:H7 posee la capacidad de sobrevivir la congelación, en forma adicional, Pascual (2005) confirma que



Escherichia coli logró sobrevivir a temperaturas de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en carne picada congelada, por un tiempo mayor a los 9 meses.

Por un lado, Ortega *et al.* (2009) consideran importante estimar el aislamiento de *Escherichia coli* como indicador de contaminación fecal y de mala calidad del alimento debido a una inadecuada manipulación en los procesos dentro del camal o durante su venta, donde la carne termina siendo portadora de microorganismos patógenos que tienen el mismo origen. *Escherichia coli* posee prevalencias en Francia, Suiza, Reino Unido y Argentina de 0.12%, 2.3%, 1.1% y 3.8%, respectivamente (Chinen *et al.*, 2001), a pesar de ser bajas las prevalencias es un microorganismo patógeno que presenta un alto riesgo para la salud humana. La CDC (2009) manifiesta que la carne de bovino es la principal implicada en los brotes epidemiológicos de ETAs en el mes de noviembre de 2009, donde resultaron contaminadas 26 personas en ocho estados en Norteamérica, concordando que se debe de realizar rutinariamente la evaluación de *Escherichia coli* en los productos cárnicos.

Al respecto, Perry & Freydière (2007) recomiendan que es importante la detección oportuna y precisa de *Escherichia coli*, muchas veces se encuentra en bajas concentraciones, siendo superadas por la diversa flora microbiana, para ello recomienda utilizar medios y técnicas de mayor sensibilidad. Para lograr ello Bettelheim (1998) recomienda un enriquecimiento selectivo (mEC+n) y posteriormente cultivo en un agar cromogénico (CHROMagar O157) logrando una alta sensibilidad y especificidad para el reconocimiento de *Escherichia coli* O157, lo cual será motivo de posteriores investigaciones en carnes bovinas para bacterias patógenas humanas. Existe controversia con respecto a la presencia de genes portadores de virulencia en *Escherichia coli*, en razón de que Brooks *et al.* (2005), demostraron que cepas de serotipo no O157:H7 fueron



portadores de genes que otorgan virulencia y poseen la capacidad de originar enfermedades en humanos. Ante ello, Jiménez *et al.* (2012) en carnes bovinas comercializadas en el mercado municipal de Culiacán (Sinaloa – México) no lograron aislar *Escherichia coli* con presencia de genes de virulencia, suponiendo ello no ser patógenas para el ser humano, por tanto cumplen con las especificaciones establecidas en la normatividad mexicana, por lo tanto también recomienda implementar programas de buenas prácticas higiénicas y de manufactura para lograr un control sanitario estricto y constante y asegurar la inocuidad de los alimentos, minimizando el riesgo de originar enfermedades a consecuencia del consumo de productos cárnicos.

Escherichia coli presentada en la Tabla 3 (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01) se ubica en la categoría 5 y clase 3, estos microorganismos originan un riesgo de salud bajo e indirecto para la salud humana. Por otro lado, se visualiza una n igual a 5 y c igual a 2, estas cifras nos indican que de 5 muestras colectadas en una determinada zona de muestreo se aceptan que 2 superen los valores permitidos. Por consiguiente, las bacterias evaluadas en este ítem presentan un peligro indirecto bajo a los consumidores, por lo tanto, se recomienda consumir dichos alimentos bien cocidos.

Por lo interpretado, es conocido que *Escherichia coli* es parte de la flora normal intestinal del organismo, posee procedencia fecal y su aislamiento en alimentos cárnicos indican contaminación en alguna de las etapas como el faenamiento de los bovinos en los camales formales y mataderos informales, un mal proceso de almacenamiento, la manipulación deficiente por los operarios en el transporte y finalmente las malas condiciones en el expendio por parte de los vendedores. Por lo tanto, las condiciones ambientales de la ciudad de Juliaca no disminuyen la carga microbiana de *Escherichia coli* en las carnes, motivando su elevación en el recuento realizado en la carne bovina,

aumentando a ello las malas condiciones de faenamiento, transporte y venta en los mercados de la ciudad de Juliaca incrementando los recuentos bacterianos superando la normatividad vigente, siendo este el motivo de las enfermedades de transmisión alimentaria.

4.1.3 *Staphylococcus aureus*

La carga bacteriana de *Staphylococcus aureus* en carne de bovino adquiridas en tres mercados de la ciudad de Juliaca, oscilaron luego de tres muestreos (M1, M2 y M3), entre 1.02×10^6 a 1.10×10^6 UFC/g, con un promedio de 1.07×10^6 UFC/g en el mercado Las Mercedes, seguido de 1.12×10^6 a 1.50×10^6 UFC/g con un promedio de 1.27×10^6 UFC/g en el mercado Túpac Amaru y entre 1.02×10^6 a 1.08×10^6 UFC/g con un promedio de 1.05×10^6 UFC/g en el mercado Santa Bárbara (Tabla 9). Los coeficientes de variabilidad (C. V.) fluctuaron entre 2.90 % y 16.13 % en los mercados Santa Bárbara y Túpac Amaru respectivamente, indicando una dispersión leve de los datos entre cada uno de los muestreos. El análisis de varianza realizado a los resultados de *Staphylococcus aureus*, resultó que los recuentos bacterianos no presentaron diferencia estadística significativa entre los tres mercados ($F=2.84$; $gl = 2$; $P = 0.1354$), tales resultados se presentan en la Tabla 15 (Anexos).

Los recuentos de *Staphylococcus aureus* en carne de bovino de los mercados de la ciudad de Juliaca, se encuentran sobre los valores recomendados en los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, establecidos en la Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01, la cual indica que deben oscilar entre 10^2 y 10^3 UFC/g de muestra, siendo equivalente a 100 – 1000 UFC/g datos representados en la Figura 3.

Tabla 9. Recuentos de *Staphylococcus aureus* en carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca, julio – septiembre 2019.

Mercados	<i>Staphylococcus aureus</i> (x 10 ⁶ UFC/g)			Prom	C. V. (%)
	Muestra	Muestra	Muestra		
	1	2	3		
Las Mercedes	1.09	1.02	1.10	1.07	4.07
Túpac Amaru	1.50	1.12	1.18	1.26	16.13
Santa Bárbara	1.06	1.02	1.08	1.05	2.90

Límites permisibles: 10² – 10³ UFC/g

Fuente: elaboración propia.

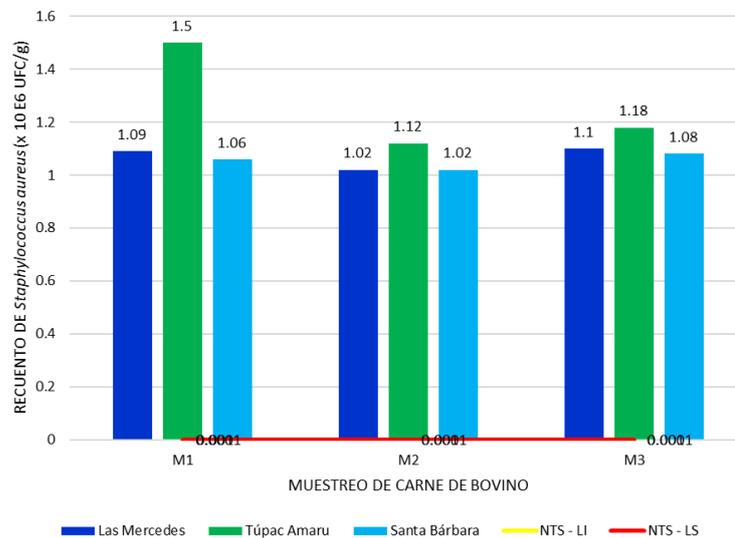


Figura 3. Recuentos de *Staphylococcus aureus* en carnes de bovino de tres mercados de la ciudad de Juliaca, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.

La presencia de *Staphylococcus aureus* en la carne de bovino de los mercados de la ciudad de Juliaca, concuerda con los resultados de Vargas (2015), quien obtuvo en el 100% de las muestras de carne bovina, esto se debe probablemente a que hubo contaminación con mucosas, piel, pelos de humanos y animales, utensilios y superficies poco higiénicos para procesar la carne en los mercados y la insuficiente refrigeración, posteriormente el poco cocimiento de dichas carnes origina intoxicaciones alimentarias



en los consumidores; asimismo coincide con los resultados obtenidos por Morocco (2019), quien en hamburguesas de carne encontró el 100% contaminado con bacterias *Staphylococcus aureus* y López *et al.* (2015), quienes registraron que el 100% en productos cárnicos presentaron *Staphylococcus aureus* con registros de que el 72 % de los expendios presentaron recuentos mayores a 100 UFC/g y el 27 % con recuentos menores a 100 UFC/g.

La determinación de *Staphylococcus aureus* en las carnes de bovinos de los mercados de la ciudad de Juliaca, se debe a la presencia de corrientes del aire, polvo, superficies poco higiénicas y realizar el lavado de utensilios con agua no potable entre los parámetros extrínsecos; por otro lado, su alto contenido de proteínas, el pH próximo a la neutralidad de los alimentos, su persistencia en la piel de los animales y el hombre, éstos últimos como reservorios, se constituyen en los factores intrínsecos (Pascual & Calderón, 2000), los cuales favorecen su crecimiento, en tal sentido se debe de consumir alimentos cárnicos bovinos bien cocidos, ya que *Staphylococcus aureus*, produce hasta 5 enterotoxinas (A, B, C, D y E), siendo la enterotoxina A la más nociva (Jay, 2005).

Staphylococcus aureus se encontró en todas las muestras de carne bovina de la ciudad de Juliaca, a pesar de poseer un clima seco y frígido, esto se debe a que es una bacteria mesófila anaerobia facultativa, capaz de crecer en rangos amplios de pH y actividad agua, persistiendo a temperaturas de congelación y descongelación, toleran la salinidad y se inactivan a temperaturas de 66 °C por 12 minutos o también a 60 °C durante 78 a 83 minutos (Ray & Bhunia, 2010; Jay *et al.*, 2005), la mala conservación de la carne bovina, trae consecuencias de intoxicaciones alimentarias al consumir alimentos preparados o conservados a temperaturas inadecuadas (Kérouanton *et al.*, 2007), e inclusive muchos de ellos pueden llegar a ser contaminados por exudados de carnes de



aves, res y cerdo (Kenneth & Wener, 2007) durante el beneficio de los animales y en toda la cadena alimentaria.

Los parámetros extrínsecos e intrínsecos son factores que influyen en el crecimiento microbiano, *Staphylococcus aureus* no está ajeno a dichos factores. El pH, la temperatura, la actividad agua, son importantes en la conservación de la carne de bovino. Los altos recuentos de *Staphylococcus aureus* está influida por el pH y la temperatura ya que altera la fisiología de proteínas y enzimas microbianas, desestabilizando estructuras internas de las bacterias, por otro lado, la humedad (actividad agua) referida a la carne fresca el cual posee agua, es fundamental para los efectos bacterianos en razón de que todo proceso bioquímico se realiza en un ambiente acuoso y la cantidad de agua presente en la carne induce a estar propenso a la descomposición microbiana (Ray & Bhunia, 2010).

Staphylococcus aureus presentados en la Tabla 3 (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01) se ubica en la categoría 7 y clase 3, estos microorganismos son de riesgo moderado y directo para la salud humana ya que posee una diseminación limitada. Por otro lado, se visualiza una n igual a 5 y c igual a 2, estas cifras indican que de 5 muestras colectadas en una determinada zona de muestreo se aceptan que 2 superen los valores permitidos. Por consiguiente, las bacterias evaluadas en este ítem presentan un peligro moderado directo a los consumidores, por lo que se recomienda consumir dichos alimentos bien cocidos.

Staphylococcus aureus es una bacteria que se ubica en diferentes partes del cuerpo humano, al respecto Food Info (2012) reafirma que se ubica en la piel de los animales y de las personas, en la garganta y las fosas nasales, casi la totalidad de los seres humanos son portadores a lo largo de su vida. Por esta razón, existe una alta probabilidad de



contaminar los alimentos, no solo por los operarios, expendedores, sino también por los clientes quienes tocan o huelen los alimentos. Estas bacterias son peligrosas ya que sintetizan enzimas y citotoxinas como las hemolisinas alfa, beta, gamma y delta, asimismo, nucleasas, lipasas, proteasas, colagenasas y hialuronidasas, cuyas funciones son degradar los tejidos del huésped en nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano. Por otro lado, la ingesta de enterotoxinas en los alimentos por cepas de *Staphylococcus aureus* pueden producir intoxicaciones debido a que los alimentos no se mantuvieron calientes (60 °C) ni lo suficientemente fríos (7.2 °C) para su conservación. Los síntomas (náuseas, vómitos, postración y calambres abdominales) de intoxicación suelen ser rápidos y muchas veces severos, lo cual dependerá de la susceptibilidad de la toxina, la cantidad de alimentos contaminados ingeridos, la cantidad de toxinas contenidos en los alimentos y la salud del huésped (Baeza *et al.*, 2010).

Las enterotoxinas biosintetizadas por *Staphylococcus aureus* son muy peligrosas, en razón de ser agentes eméticos y están relacionadas con la intoxicación alimentaria, debido a la producción de una toxina estable al calor que origina enfermedad en los seres humanos, debido al consumo de alimentos guardados a temperatura ambiente por períodos considerables (Eroski Consumer, 2012). *Staphylococcus aureus*, son cocos Gram positivos y pertenecen a la familia Micrococcaceae (Murray & Pfaller, 2007), son causantes de gran número de enfermedades, originan infecciones dermatológicas y de tejidos blandos, llegando a bacteriemias en el ser humano (Larsen *et al.*, 2009). A pesar de ser parte de la microbiota humana, está relacionado con grandes infecciones nosocomiales, por lo tanto es importante debido a su diseminación en la población (Ho *et al.*, 2014), por lo que Jay *et al.* (2005) recomienda que los alimentos deben ser sometidos a temperatura de 66 °C por 12 minutos o bien a 60 °C por un lapso de tiempo entre 78 y



83 minutos, con dichas condiciones se pueden inactivar un millón de células bacterianas de *Staphylococcus aureus* por ml o g de alimento.

Los altos recuentos de *Staphylococcus aureus* en los alimentos cárnicos evaluados en la investigación se debe a la capacidad que poseen de multiplicarse rápidamente generando gran número de colonias bacterianas sin que el alimento manifieste descomposición. Además, los factores de riesgo como la preparación de alimentos por personas con infecciones en la piel, comúnmente originadas por *Staphylococcus aureus* y el consumo de alimentos preparados inadecuadamente o conservados a temperaturas inadecuadas (Kérouanton *et al.*, 2007). Otra fuente de contaminación de la carne bovina son los exudados que producen como se observa en carnes de aves, de cerdo (Kenneth & Wener, 2007) entre otros animales, esto se observó en los mercados muestreados, siendo una preocupación por las autoridades Municipales y de Salud, tal como sucede en Colombia, que en el año 2009, reportaron 899 brotes de enfermedades que se transmitieron por alimentos, de todos ellos el 56% fue originado por agentes bacterianos, de los cuales el 18.4% fueron a causa de *Staphylococcus coagulasa positiva*, 79% fue aislado en alimentos, el 12.7% en muestras biológicas y el 8.5% en superficies de venta, evidenciando que es la primera causa de brotes de origen alimentario en ese país (SIVIGILA, 2013).

Se acepta la hipótesis planteada en el proyecto de investigación, que menciona lo siguiente: “Los recuentos de bacterias mesófilas aerobias, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en carne de bovinos expendidos en los mercados Santa Bárbara, las Mercedes y Túpac Amaru de la ciudad de Juliaca superan los valores recomendados en la Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01” y en la investigación los recuentos bacterianos superaron los valores límites permitidos.



Luego de realizar la discusión de los resultados, *Staphylococcus aureus* es parte de la flora normal de la superficie corporal y las mucosas principalmente las fosas nasales, razón por la cual las personas que se dedican al expendio de carnes, deben constantemente lavarse las manos para lograr recuentos mínimos, porque al incrementarse los recuentos en las carnes, desencadena múltiples patologías digestivas en los consumidores tales como vómitos súbitos, diarrea, entre otros trastornos, por lo tanto, se sugiere el consumo de carnes bien cocidas. Las muestras de carne bovina adquiridas en los mercados poseen altas cargas microbianas, pero estas no son perceptibles debido a su apariencia, sabor y olor; en tal sentido, la población consumidora está propensa a ingerir alimentos contaminados con estas bacterias. Mayormente, la contaminación de la carne con *Staphylococcus aureus*, se dan en los diferentes procedimientos de faenamiento y manejo de vísceras en el interior de los camales, en razón de que utilizan agua no clorada y agua de pozos que no son aptas para utilizar en las actividades de un camal, asimismo, a la mala disposición y manipulación de las personas desde los comerciantes mayoristas a los minoristas.

4.2 SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* FRENTE A AMPICILINA, CIPROFLOXACINA, CEFUROXIMA Y *Staphylococcus aureus* FRENTE A PENICILINA, CLINDAMICINA Y ERITROMICINA

4.2.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli aislada de los tres mercados de la ciudad de Juliaca fue inhibida por ampicilina formando halos que variaron entre 11 mm en bacterias procedentes del mercado Santa Bárbara, considerándolas como resistentes y de 14 y 15 mm en los mercados Túpac Amaru y Las Mercedes respectivamente, considerándolas con respuesta intermedia a dicho antibiótico. Frente a la ciprofloxacina, los halos de inhibición variaron

entre 16 mm en bacterias procedentes del mercado Túpac Amaru y de 17 mm en bacterias aisladas de los mercados Las Mercedes y Santa Bárbara, en todos los casos fueron catalogados como respuesta intermedia a la ciprofloxacina. Mientras tanto, frente a la cefuroxima, los halos fluctuaron entre 5 mm, 8 mm y 10 mm en bacterias aisladas de los mercados Santa Bárbara, Las Mercedes y Túpac Amaru, respectivamente, todas fueron catalogadas como bacterias resistentes al mencionado antibiótico (Tabla 10).

Tabla 10. Promedios de diámetros de halos de inhibición de antibióticos sobre *Escherichia coli* aislados de carne de bovinos de tres mercados de la ciudad de Juliaca, agosto y noviembre del 2019.

Antibióticos y diámetros referenciales	Diámetro de halos de inhibición (mm)					
	Las Mercedes	Categoría	Túpac Amaru	Categoría	Santa Bárbara	Categoría
Ampicilina						
R: ≤ 13						
I: 14 - 16	15	Intermedio	14	Intermedio	11	Resistente
S: ≥ 17						
Ciprofloxacina						
R: ≤ 15						
I: 16 - 20	17	Intermedio	16	Intermedio	17	Intermedio
S: ≥ 21						
Cefuroxima						
R: ≤ 14						
I: 15 - 22	8	Resistente	10	Resistente	5	Resistente
S: ≥ 23						

Fuente: elaboración propia.

Escherichia coli presentó diferentes respuestas a los tres antibióticos experimentados. Frente a ampicilina la respuesta fue entre intermedio y resistente, siendo intermedios debido a que los halos de inhibición se encontraron entre 14 y 16 mm y resistentes cuando fueron menores a 13 mm; por otro lado frente a la ciprofloxacina todos



los resultados fueron de respuesta intermedia entre razón de que los halos oscilaron entre 16 y 20 mm; finalmente frente a la cefuroxima, todos los resultados estuvieron enmarcados dentro de la respuesta resistente, en razón de que los halos fueron menores a 14 mm (INS, 2002).

Escherichia coli aislada de la carne bovina procedente del mercado Santa Bárbara, presentó resistencia al antibiótico ampicilina, lo cual concuerda con lo reportado por Flores (2017), donde el 39% de las cepas de *Escherichia coli* aisladas del proceso de beneficio bovino, fueron resistentes a la ampicilina y el 39% fueron sensibles a la ciprofloxacina. Al respecto, Moreno *et al.* (2018), confirman que *Escherichia coli* aislados en pequeños animales son resistentes a los antibióticos, la resistencia es a causa de poseer genes de resistencia a los antibióticos y entre los de mayor prevalencia se encuentran a los genes *blaTEM*, *CTX-M-1*, *mecA* y clones como Tn5405-like, lo mismo refieren Reyes *et al.* (2013), quienes indican que la resistencia que poseen las bacterias se debe al material genético que posee, en *Escherichia coli* O157:H7 aislada de productos cárnicos de bovinos beneficiados, presentaron resistencia a antibióticos como cefalotina, carbencilina, amikacina y gentamicina, asumiéndose que es a causa de los genes *eae*, *stx1* y *stx2*, por otro lado, Cortez (2017), reporta que en carne molida comercializada en supermercados del distrito de Miraflores (Lima), las enterobacterias entre ellas *Escherichia coli* resultaron resistentes a los antibióticos cefotaxima 30 µg, ceftazidima 30 µg, ceftriaxona 30 µg, aztreonam 30 µg y cefpodoxima 10 µg.

Por otro lado, la respuesta de *Escherichia coli* a los antibióticos fue variable según la procedencia del mercado, donde la resistencia a la ampicilina se presentó en bacterias aisladas del mercado Santa Bárbara, y la resistencia a la cefuroxima se presentó en las bacterias de los tres mercados. El resto de las evaluaciones resultaron con respuesta



intermedia. Dicha resistencia observada se debe a que *Escherichia coli* procede de bovinos a los cuales se les administró indiscriminadamente antibióticos con la finalidad de obtener mejores crecimientos del animal en su proceso de crianza, así como también al deficiente tiempo de tratamiento o aplicación en el campo veterinario, que muchas veces en el medio rural no participa directamente un profesional médico veterinario, más bien los animales son dosificados por técnicos agropecuarios y personas aficionadas a la ganadería, lo cual es corroborado por Medina (2011), quien al administrar doxiciclina en conejos originó un cambio en las poblaciones de *Escherichia coli* predominantes del tracto intestinal, llegando a un fenotipo de resistencia predominante a doxiciclina y eritromicina, debido a la mutación de los genes *gyrA* y *parC* que revelaron la resistencia a fluoroquinolonas. Sin embargo, San Martín *et al.* (2002), aislaron cepas de *Escherichia coli* a partir de casos de mastitis bovina, donde la gran mayoría presentaron sensibilidad a los antibióticos y las resistencias no fueron superiores al 25%.

Entre los principales mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos beta-lactámicos, se presenta la hidrólisis enzimática, debido a que las enzimas beta – lactamasas, hidrolizan el enlace amida del núcleo beta – lactámico, entre las beta-lactamasas se mencionan a blaTEM, blaSHV, que son penicilasas, las cuales son inhibidas por el ácido clavulánico. Contra cefalosporinas de tercera generación, las bacterias sintetizan la blaOXA-1, que se caracteriza por hidrolizar a la oxacilina (Bush & Jacoby, 2009). Adicionalmente, otros mecanismos de resistencia que posee *Escherichia coli*, son los integrones que son piezas genéticas con capacidad de captar genes que codifican resistencia antibiótica y están conformadas por elementos para la inserción y expresión de genes exógenos, como son el fragmento que codifica una integrasa (*intI*), la secuencia *attI* a la que se unen los genes y codifican diferentes mecanismos de resistencia



y la secuencia *intI*, en el extremo 3', una secuencia promotora (Pc) desde donde se transcriben los casetes de resistencia integrados (Sabate & Guillem, 2002).

Asimismo, los integrones pueden ser adquiridos mediante mutaciones puntuales cromosómicas o por transferencia horizontal especialmente entre bacterias enteropatógenas que se diseminan a nivel mundial. Cada familia antibiótica posee su mecanismo de resistencia, para las quinolonas las mutaciones cromosómicas, generan proteínas que imposibilitan la unión del antibiótico y las bombas de eflujo específicas, inactivando así a las enzimas, alterando los sitios blancos y la permeabilidad de las membranas citoplasmáticas (Mosquito *et al.*, 2011). A respecto, la OMS (2001), manifestó que la respuesta de resistencia antimicrobiana es un fenómeno orgánico natural debido a la ocurrencia de mutaciones y la capacidad que poseen las bacterias de transferir horizontalmente su material genético, originándose una clara correlación entre el uso de antibióticos y la resistencia bacteriana.

En la investigación, *Escherichia coli* presentó resistencia antibiótica, esta respuesta es un fenómeno biológico natural que se da gracias a mutaciones y la gran capacidad que poseen de traspasar horizontalmente su material genético mutado, donde el uso de antibióticos y la emergencia de la resistencia bacteriana posee una alta correlación (OPS, 2001). La persistencia de estas bacterias resistentes a los antibióticos es un problema mundial ya que trae mayor sufrimiento humano, disminución de la productividad e incremento de la mortalidad. La relación entre un antibiótico y una bacteria, es alterada por factores como la dosis, la farmacocinética del antibiótico, la concentración del inóculo bacteriano, la duración del tratamiento, entre otros aspectos, en tal sentido se debe optimizar el uso de los fármacos, realizando supervisiones periódicas



de resistencia y se debe de implantar como una política de control (Andersson & Hughes, 2010).

Para observar pruebas fenotípicas se realizó el metodo de Kirby – Bauer, tal como lo recomienda la OMS (Organización Mundial de la Salud) añadiendo a ello la realización de supervisiones de resistencia tanto *in vivo* representado por los fracasos terapéuticos que son de vital importancia. Por otro lado, la vigilancia molecular, que se basa en identificar genes que expresan mecanismos de resistencia bacteriana, representan el futuro de la vigilancia en temas de resistencia antibiótica. Donde la resistencia a un antibiótico es específica, aunque también se puede generar resistencia cruzada, que afecta a los antibióticos con el mismo efecto antimicrobiano o similar mecanismo de acción (OPS, 2001). En muchas ocasiones los genes de resistencia a diversos antibacterianos se descubrieron estar asociados en los mismos integrones (Di Conza & Gutkind, 2010), dando origen al fenómeno de coselección de la resistencia antimicrobiana que consiste en mantener genes que confieren resistencia a un antibiótico en una bacteria, mediante el uso de otros agentes antimicrobiano, en tal sentido se debe conocer a los genes de resistencia presentes, para tomar mejores políticas de uso antibiótico y así lograr el control de la diseminación de dichos genes (Mosquito *et al.*, 2011).

En nuestro país la única vigilancia de resistencia que se realiza es *in vitro* donde se observa la respuesta fenotípica, mediante la resistencia o la sensibilidad antibiótica, y los estudios de búsqueda de genes de resistencia son muy pocos y muy reducidos específicamente en enteropatógenos (Mosquito *et al.*, 2011). Entre los pocos estudios genéticos realizados en el país, manifiesta la diseminación de bacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) del tipo CTX-M en bacterias *Escherichia*



coli que fueron aisladas desde niños menores de cuatro años de edad (Pallecchi *et al.*, 2004).

Por lo tanto, se considera que la genética bacteriana es muy importante en la resistencia a los antibióticos, en razón que expresan la síntesis de proteínas con características enzimáticas que pueden destruir la estructura de los antibióticos, así como también generar estructuras capaces de impedir el efecto antibiótico tales como la formación de cápsulas bacterianas. La diferencia observada en la respuesta antimicrobiana en *Escherichia coli* frente a los antibióticos evaluados, se debe a que presentan variaciones en su genética y la precedencia de la carne animal ya que se desconoce si los bovinos presentan administración antibiótica. En la realidad ganadera de la región Puno lo que se observó es que, en el proceso de crianza de los animales, los médicos veterinarios no realizan pruebas de antibiograma ante las infecciones bacterianas que se presentan en los animales, y que la administración de los antibióticos es empírica, dando como consecuencia la recuperación de los animales, pero creando la resistencia antimicrobiana en los agentes infecciosos como las bacterias.

Por ello es importante realizar este tipo de investigaciones de respuesta a la susceptibilidad antimicrobiana para determinar la relación antibiótico – bacteria, ya que puede ser alterada por factores como la duración del tratamiento, el tamaño del inóculo bacteriano, la farmacocinética de la droga, la dosis, entre otros aspectos, tal como sucede en la aplicación de antibióticos en el ser humano, por lo tanto se debe de optimizar el uso de fármacos, mediante supervisiones temporales de la resistencia que debe constituirse en una política de control de la resistencia antibiótica, siendo un problema para la salud de la población Juliaqueña.

4.2.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus aislada de los tres mercados de la ciudad de Juliaca, frente a la penicilina resultaron con halos de inhibición bacteriana de 18, 19 y 25 mm en bacterias procedentes de los mercados Las Mercedes, Túpac Amaru y Santa Bárbara, respectivamente, siendo considerándolas como resistentes. Frente a la clindamicina, los halos de inhibición fueron de 15, 15 y 17 mm en bacterias procedentes de los mercados Las Mercedes, Túpac Amaru y Santa Bárbara, respectivamente, en todos los casos fueron catalogados como respuesta intermedia a la clindamicina. Mientras tanto que, frente a la eritromicina, los halos de inhibición bacteriana fueron 13 mm en bacterias aisladas del mercado Santa Bárbara, consignándoles una respuesta resistente; por otro lado, en bacterias aislada de los mercados Túpac Amaru y Las Mercedes, resultaron con halos de inhibición de 17 y 19 mm, respectivamente, siendo catalogadas como bacterias con respuesta intermedia al mencionado antibiótico (Tabla 11).

Tabla 11. Promedios de diámetros de halos de inhibición de antibióticos sobre *Staphylococcus aureus* aislados de carne de bovinos de tres mercados de la ciudad de Juliaca, agosto y noviembre del 2019.

Antibióticos	Diámetro de halos de inhibición (mm)					
	Las Mercedes	Categorías	Túpac Amaru	Categorías	Santa Bárbara	Categorías
Penicilina						
R: ≤ 28						
I: --	18	Resistente	19	Resistente	25	Resistente
S: ≥ 29						
Clindamicina						
R: ≤ 14						
I: 15 - 20	15	Intermedio	15	Intermedio	17	Intermedio
S: ≥ 21						
Eritromicina	19	Intermedio	17	Intermedio	13	Resistente



R: ≤ 13

I: 14 - 22

S: ≥ 23

Fuente: elaboración propia.

En la presente investigación *Staphylococcus aureus* presentó respuesta resistente al antibiótico penicilina en todas las muestras aisladas de los tres mercados; frente a la clindamicina todas resultaron con respuesta intermedia; mientras tanto frente a la eritromicina, solo fueron resistentes las procedentes del mercado Santa Bárbara y las procedentes de los mercados Las Mercedes y Túpac Amaru resultaron con respuesta intermedia, contrastando con los valores recomendados por el INS (2002). Estos resultados fueron similares a los obtenidos por San Martín *et al.* (2002), quienes, a partir de casos de mastitis bovina, aislaron *Staphylococcus aureus*, y estos presentaron resistencia a los antibióticos amoxicilina, ampicilina, estreptomina, lincomicina y penicilina, tal como lo afirman Villanueva & Morales (2017). Además, Cortez (2017), en muestras de carne molida comercializada en supermercados del distrito de Miraflores (Lima), aislaron bacterias del género *Staphylococcus*, donde el 13.64% fueron meticilino resistentes; sin embargo, fueron contrarios a los reportados por Cardona *et al.* (2013), quienes, al aislar *Staphylococcus aureus* desde casos de onfalitis (infección del ombligo y regiones periféricas) en terneros, determinaron ser sensibles a eritromicina, oxacilina, clindamicina y vancomicina, pero resistentes a la gentamicina, norfloxacina y trimetoprim – sulfametoxazol.

En la investigación, *Staphylococcus aureus* tuvo una respuesta intermedia a los antibióticos clindamicina en todas las aisladas de los tres mercados y frente a eritromicina en bacterias aisladas de los mercados Las Mercedes y Túpac Amaru; mientras que a la penicilina todas las bacterias aisladas fueron resistentes. La respuesta obtenidas de



Staphylococcus aureus frente al antimicrobiano, se basa en la estructura genética que poseen cada una de ellas, tal como sucede cuando se aísla a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, y la causa la presencia del gen *mecA*, que expresa la proteína ligadora de penicilina (CDC, 2018), ante la vancomicina y la linezolid, la resistencia de la misma bacteria, se debe al intercambio de resistencia *vanA* procedente de los *Enterococos* hacia *Staphylococcus aureus*, y a linezolid gracias a la mutación en el sitio de destino 23S ARNr (Morrisey *et al.*, 2011). Por otro lado, la resistencia a la rifampicina, se da debido a la mutación del gen *rpoB* que sintetiza la producción de ARN polimerasa con baja afinidad a la rifampicina, ante las fluoroquinolonas existe mutaciones en subunidades de la topoisomerasa IV y del ADN girasa y la bomba de eflujo, tal como sucede frente a los macrólidos (NNIS, 2004).

Actualmente las cepas de *Staphylococcus aureus* poseen un extenso rango de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, por lo que se pueden aislar cepas resistentes y multirresistentes, tal como se determinó en la investigación, esto se debe a la presión selectiva que se impuso por los tratamientos antimicrobianos, donde la resistencia se acumula y disemina mediante los plásmidos, los transposones y las secuencias de inserción (Velásquez, 2005). La resistencia bacteriana es a causa de la producción de enzimas inactivadoras como las β – lactamasas o penicilinasas, la resistencia intrínseca a meticilina y la modificación de las proteínas de unión a las penicilinas, se deben a la presencia del gen *mecA* (Gil, 2000), éste último es el mecanismo más importante de la resistencia antibiótica en aspectos clínicos. En tal sentido, *Staphylococcus aureus* aislados de la carne bovina al poseer resistencia a los antibióticos evaluados (penicilina y eritromicina), y una respuesta intermedia próxima a la resistencia, siendo la causa la administración de antibióticos en los animales y para evitar ello se debe



de realizar pruebas de antibiograma, antes de administrar los antibióticos, en razón de que poseen una gran capacidad de generar resistencia genética a los antibióticos.

La respuesta de resistencia a la penicilina en *Staphylococcus aureus* se debe a la producción de penicilinasas de origen plasmídico, estas inactivan la penicilina G, ureidopenicilinas y carboxipenicilinas. La penicilinasa favorece la biosíntesis de la proteína antirrepresora al inhibir el gen que reprime a la betalactamasa, aumentando la síntesis de la penicilinasa, todo este mecanismo es dirigido por el gen *blaZ*. La proteína BlaI se une al operón del ADN, reprimiendo la transcripción de *blaZ* como de *blaR1-blaI* y ante la ausencia de penicilina, la enzima se expresa a bajo nivel. La unión de la penicilina al receptor de la membrana celular BlaR1 estimula la autoactivación catalítica, produciendo fragmentos inactivos, iniciando la transcripción de *blaZ* y *blaR1-blaI*, inactivando finalmente a la penicilina (Lowy, 2003). El incremento de la respuesta de resistencia de *Staphylococcus aureus* a la penicilina, se debe a la capacidad de mutar, debido a que los genes se encuentran en los plásmidos y puede ser transferida entre microorganismos mediante transducción *in vivo*, siendo un mecanismo demostrado a nivel internacional (Chambers, 1997).

La resistencia bacteriana a los antibióticos se incrementó en éstos últimos años, particularmente en microorganismos que ocasionan infección hospitalaria, siendo una preocupación grande que incrementa la morbimortalidad y los costos de los tratamientos (OMS, 2001). Entre las estrategias de control se citan el fomentando del lavado de manos, el aislamiento a los pacientes de riesgo, la medicación racional de antibióticos con espectro enfocado en microorganismos aislados, la reducción de los esquemas de tratamiento y la aplicación del manejo antibiótico en base a la microbiología local (Lin & Hayden, 2010). *Staphylococcus aureus* es la segunda bacteria más frecuente que fue



aislada en las infecciones hospitalarias con tendencia a un aumento progresivo de la resistencia a la oxacilina, que es el antibiótico de primera elección, generando la necesidad de otros antibióticos (Cortés *et al.*, 2007). Ante ello se requiere de vigilancia en las instituciones hospitalarias y en consultorios externos, para determinar la persistencia de *Staphylococcus aureus* resistente a los antibióticos y establecer un plan de manejo de antibióticos (Tibavizco *et al.*, 2007).

Staphylococcus aureus es el microorganismo más aislado en pacientes hospitalizados, necesita de un análisis y vigilancia especial debido a la aparición de cepas resistentes con alta capacidad de originar morbilidad y mortalidad en pacientes de casos ambulatorios (Reyes *et al.*, 2007). La resistencia a la penicilina y eritromicina reportada en la presente investigación, coincide con la elevada resistencia a la oxacilina y otros antibacterianos de forma simultánea, disminuyendo las opciones terapéuticas con impactos en la mortalidad especialmente en pacientes críticos (Rankin, 2005). La presencia de resistencias bacterianas termina en un fracaso terapéutico, aun en pacientes ambulatorios sin factores de riesgo, existe el aislamiento de cepas salvajes de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (Álvarez *et al.*, 2010). En la investigación se obtuvo la resistencia a la eritromicina, lo que concuerda con *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, esta resistencia se relaciona con microorganismos con genotipo de tipo *SCCmec IV* (Reyes *et al.*, 2009b).

Actualmente cifras superiores al 90% de cepas de *Staphylococcus aureus* desarrollaron resistencia a la penicilina, pero si es sensible este antibiótico es de primera línea y de amplia administración debido a que posee una buena disponibilidad en relación a otros antimicrobianos, un bajo costo y una toxicidad selectiva, al inhibir la formación de peptidoglucano (Lowy, 2003). *Staphylococcus aureus* es más conocida por su



resistencia a la meticilina, la cual puede clasificarse por ser compleja, las cuales se diferencian al inicio en dos tipos de cepas, con resistencia homogénea (de alto nivel) y heterogénea, siendo estas muy reducidas. La bibliografía manifiesta que la expresión de resistencia se da en ciertas condiciones de cultivo adecuadas como en pH neutro, incubación prolongada a 35 °C, medios hipertónicos, entre otros factores (Camarera & Sánchez, 2017). *Staphylococcus aureus* a pesar de su gran interés clínico, se encuentra asociado a múltiples respuestas de resistencias a los antibióticos no betalactámicos, finalmente las bacterias SARM serán consideradas multirresistente cuando además de ser resistente a los betalactámicos, posee también resistencia al menos a otras tres familias de antibióticos (Lacueva, 2017).

Por todo lo interpretado, se acepta la hipótesis planteada para ambas bacterias, el cual afirma que “La resistencia a los antibióticos se presenta en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aisladas e identificadas en carnes de bovino expandidas en mercados de la ciudad de Juliaca”, en razón de que estas bacterias presentaron resistencia a los antibióticos evaluados.

Como se observa, las bacterias poseen una respuesta variable frente a los antibióticos, a pesar de ser de la misma especie, estas pueden variar según sus diferencias genéticas y origen de aislamiento. Por todo ello, la resistencia de este microorganismo a los antibióticos, están vinculados al uso inapropiado y desmedido de antimicrobianos a los bovinos, asimismo a la falta de realización de pruebas de antibiograma previa prescripción médica veterinaria, y en la salud pública los profesionales médicos generalmente no envían a los pacientes con infecciones bacterianas a realizarse la mencionada prueba de laboratorio (antibiograma). *Staphylococcus aureus*, coloniza la piel y las mucosas, en ellas probablemente se viene desarrollando la transferencia de



genes de resistencia a los antibióticos mediante la transferencia horizontal, el cual puede llegar a originar una resistencia cruzada. *Staphylococcus aureus* es una bacteria que tiene muchas características propias de su virulencia y la resistencia a los antimicrobianos, sus infecciones se presentan generalmente en pacientes hospitalizados y sus consecuencias son tan severas a pesar que existe terapia antimicrobiana, por lo que queda pendiente estudiar la forma de diseminación de dicha resistencia a los antibióticos entre cepas de *Staphylococcus aureus*, que es muy importante para la salud pública, ya que ha desarrollado la resistencia muy rápidamente a muchos antimicrobianos conocidos para uso clínico.



V. CONCLUSIONES

- El recuento de bacterias en carne de bovinos expendidos en los mercados Santa Bárbara, las Mercedes y Túpac Amaru de la ciudad de Juliaca fueron de bacterias aerobias mesófilas entre 2.34×10^6 a 2.81×10^6 UFC/g, *Escherichia coli* entre 2.10×10^6 a 2.23×10^6 UFC/g y *Staphylococcus aureus* entre 1.05×10^6 a 1.27×10^6 UFC/g, sin diferencia estadística significativa entre los mercados ($P > 0.05$). De acuerdo a estos recuentos, la carne de bovino expendida en los mercados de Juliaca no reúne las condiciones de calidad higiénica según la norma NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01.
- *Escherichia coli* fue resistente a ampicilina en bacterias procedentes del mercado Santa Bárbara, asimismo fue resistente a cefuroxima en bacterias aisladas de los tres mercados (Santa Bárbara, Túpac Amaru y Las Mercedes); *Staphylococcus aureus* fue resistente a la penicilina en bacterias aisladas de los tres mercados, frente a la eritromicina solo las procedentes del mercado Santa Bárbara resultaron resistentes, según el Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión del INS (2002).



VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de evaluación de carga microbiana en los utensilios de venta de los expendedores, a la salida de los lugares de faenamiento y a la llegada a los mercados, los medios de transporte de carne, así como la calidad higiénica del agua del mercado que es utilizado para el lavado de la mesa de venta, los cuales vienen incrementando los recuentos bacterianos en carnes de bovino.
- Realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana multirresistente de las bacterias aisladas de la carne bovina, especialmente con antibióticos de amplio espectro evitando la contaminación cruzada.



VII. REFERENCIAS

- Abreu, O., Alpuche C., Arathoon E. & Arbo A. (2011). Tratamiento de las enfermedades infecciosas. Quinta edición Washington, D.C: OPS.
- Algino, R., Badtram G., Ingham B. & Ingham S. (2009). Factors associated with *Salmonella* prevalence on pork carcasses in very small abattoirs in Wisconsin. *Journal of Food Protection*. Vol. 72: 714 – 721.
- Almanza, A. (2011). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in certain raw beef products. pp. 58157–58165. *Fed. Regist.*
- Alós, J. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Vol. 33 (10): 692-697.
- Alvarado, J. (1999). Antibióticos y Quimioterápicos. Primera edición. *Apuntes médicos del Perú*. Lima – Perú. 295 p.
- Álvarez, C., Yomayusa N., Leal A., Moreno J., Méndez S., Ibañez M. *et al.* (2010). Nosocomial infections caused by community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Colombia. *Am J Infect Control*. Vol. 38 (4): 315-318.
- Andersson, D. & Hughes D. (2010). Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance?. *Nat Rev Microbiol*. Vol. 8 (4): 260-271.
- ANMAT, Administración nacional de medicamentos, alimentos y tecnología médica. (2004). *Guía de interpretación de resultados Microbiológicos de Alimentos*. ANMAT. Argentina. 21 p.
- ANMAT, Administración nacional de medicamentos, alimentos y tecnología médica y MINSA, Ministerio de Salud. (2014). *Análisis microbiológico de los alimentos. Metodología Analítica Oficial. Microorganismos Indicadores*. ANMAT. Ministerio de Salud. Vol. 3. Argentina. 153 p.
- Ansary, S., Darling K., & Kaspar W. (1999). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef patties during storage at 2, -2, 15 and then -2 degrees C, and -20 degrees C. *J Food Prot*. 62 (11): 1243-1247.
- Armendáris, J. (2008). *Seguridad e higiene en la manipulación*. Copyright Ediciones. España. 8 – 128.
- Ávila G. & Fonseca M. (2008). *Calidad microbiológica de jugos preparados en hogares de bienestar familiar en la zona norte de Cundinamarca*. Tesis de Microbiólogo



- Industrial. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá – Colombia. 57 p.
- Ávila, K. & Ramos A. (2013). Evaluación de la calidad microbiológica de las vísceras (hígado y pulmón) de bovino para consumo, expendidos en el mercado modelo de Huancayo. Tesis de Ing. en Industrias Alimentarias. Fac. de Ing. de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional del Centro del Perú. 156 p.
- Baeza, R., Rossler C., Mielnicki D., Zamora M. & Chirife J. (2010). Predicción del crecimiento de *Staphylococcus aureus* en un alimento cárnico dejado a temperatura ambiente por varias horas: aplicación a varias ciudades argentinas de climas cálidos (en línea). Argentina. Universidad Católica Argentina, Facultad de Ciencias Agrarias. 9 p.
<http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/investigación/predicción-crecimiento-estaphylococcus-aureus.pdf>
- Bettelheim, K. (1998). Reliability of CHROMagar O157 for the detection of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157 but not EHEC belonging to other serogroups. J Appl Microbiol. Vol. 85: 425-428.
- Bhandare, S., Sherikar A., Paturkar A., Waskar V. & Zende R. (2007). A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. Food Control. Vol. 18: 854 – 858.
- Brooks, J., Sowers E., Wells J., Greene K., Griffin P., Hoekstra R. *et al.* (2005). Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983-2002. J Infect Dis. Vol. 192: 1422-1429.
- Bush, K. & Jacoby G. (2009). Updated functional classification of beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. Vol. 54 (3): 969 – 976.
- Cabrera, C., Gómez R. & Zúñiga A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colombia Médica del Valle. Vol. 38: 149-158.
- Calderón, G. & Aguilar L. (2016). Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica. Vol. LXXIII (621): 757 – 763.
- Callaway, T., Elder R., Keen J., Anderson R. & Nisbet D. (2003). Forage feeding to reduce preharvest *Escherichia coli* populations in cattle, a review. Journal of dairy science. Vol. 86: 852 – 860.



- Camarera, J. & Sánchez R. (2017). Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Control Calidad SEIMC. <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>.
- Campuzano S., Mejía D., Madero C. & Pabón P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D. C. Revista NOVA. Vol. 13 (23): 81 – 92.
- Cardona, J., Álvarez, J., & Arrieta, G. (2013). Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias aisladas desde onfalitis en terneros de 10 explotaciones ganaderas del departamento de Córdoba, Colombia. Rev. Veterinaria y Zootecnia. Vol. 7 (1): 62–70.
- Cardoso, M. (2012). Peligros bacterianos en la inocuidad de la carne de cerdo. Cap. 4. En: La inocuidad como estrategia de competitividad para la producción de la carne de cerdo. Editado por: Vázquez L, Villoch A, Ramos G. (2012). Primera edición. p. 58-100. Ed: Red Porcina iberoamericana. <http://www.redporcina.org.mx>.
- CDC, Centers For Disease Control and Prevention. (2009). Multistate Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections Associated with Beef from Fairbank Farms. <http://www.cdc.gov/ecoli/2009/1124.html>
- CDC, Centres for Disease Control and Prevention. (2007). Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States. MMWR. Vol. 59: 973-979.
- CDC, Centres for Disease Control and Prevention. (2018). Antimicrobial resistance. Página web: <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>. Fecha de revisión: Ago – 2019.
- Chambers H. & De Leo F. (2009). Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. J. Clin Inv. Vol. 119 (9): 2464 – 2474.
- Chambers, H. (1997). Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev. Vol. 10 (4): 781-791.
- Chapman, P., Cornell J. & Green C. (2000). Infection with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 during a visit to an innercity open farm. Epidemiol Infect. Vol. 125: 531 – 536.
- Chen, J., Ren Y., Seow J., Liu T., Bang W. & Yuk H. (2012). Intervention technologies for ensuring microbiological safety of meat: current and future trends. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 11: 119 – 132.



- Chinen, I., Tanaro J., Miliwebsky E., Lound L., Chillemi G., Ledri S. *et al.* (2001). Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *J Food Prot.* Vol. 64: 1346-1351.
- Cifuentes, M., Silva F., García P., Bello H., Briceño I., Calvo M. & Labarca J. (2014). Susceptibilidad antimicrobiana en Chile 2012. *Revista Chilena de Infectología.* Vol. 31 (2): 123-130.
- Condori, Ch. (2014). Deterioro y conservación de alimentos. Tesina de Ingeniero de Industrias Alimentarias mediante Examen Suficiencia Profesional. Facultad de Ingeniería de Procesos, Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa – Perú. 143 p.
- Cordiés, L., Machado A. & Hamiton M. (1998). Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Médica Cubana.* Vol. 8 (1):18-20.
- Corrales, C., Peña V. & Caicedo D. (2008). Identificación de *Salmonella* y *Escherichia coli* en manos y guantes de manipuladores en planta de sacrificio y faenado de un municipio de Cundinamarca. *Revista NOVA – Publicación científica en Ciencias Biomédicas.* Vol. 6 (9): 20 – 24.
- Cortés, J., Gómez C., Cuervo S. & Leal A. (2007). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Bogota, Colombia: Public Health implications. *Rev Salud Pública (Bogotá).* Vol. 9: 448-454.
- Cortez, V. (2017). Aislamiento y caracterización de bacterias de la familia enterobacteriaceae y *Staphylococcus* spp, presentes en la carne molida comercializada en supermercados ubicados en el distrito de Miraflores, Lima - Perú: Evidencia de cepas productoras de B - lactam. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima - Perú.
- Croxen, M. & Finlay B. (2009). Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology.* Vol. 8: 26 – 38.
- Croxen, M., Law R., Scholz R., Keeney M. Wlodarska B. & Finlay B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews.* Vol. 26 (4): 822 – 880.
- Dangles, O., Loirat J., Freour C., Serre S., Vacher J., & Le Roux X. (2016). Research on biodiversity and climate change at a distance: collaboration networks between Europe and Latin America and the Caribbean. *PLoS One.* 11 (6).



- Datta, S., Akter A., Shah I., Fatema K., Islam T., Bandyopadhyay A., Khan Z. & Biswas D. (2012). Microbiological quality Assessment of raw meat and meat products, and antibiotic susceptibility of isolated *Staphylococcus aureus*. Agriculture, Food and Analytical Bacteriology. Vol. 2: 187 – 194.
- De Busser E., Maes D., Houf K., Dewulf J., Imberechts H. & Bertrand S. (2011). Detection and characterization of *Salmonella* in lairage, on pig carcasses and intestine in five slaughterhouses. Int J Food Microbiol. Vol. 145: 279-286.
- De Colsa, A. (2011). *Staphylococcus aureus*: De la genómica a la clínica. Rev Enf Infec Pediatr. Vol. 24 (95): 91 – 94.
- Delaquis, P., Bach S. & Dinu L. (2007). Behavior of *Escherichia coli* O157: H7 in leafy vegetables. Journal of Food Protection. Vol. 70: 1966 – 1974.
- Delcenserie, V., Loncaric D., Bonaparte C., Upmann M., China B., Daube G. & Gavini F. (2008). *Bifidobacteria* as indicators of faecal contamination along a sheep meat production chain. Journal of Applied Microbiology. Vol. 104: 276 – 284.
- Delgado, H., Cedeño C., Montes de Oca N. & Villoch A. (2015). Calidad higiénica de la carne obtenida en mataderos de Manabí – Ecuador. Rev. Salud Anim. Vol. 37 (1): 1-9. <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v37n1/rsa01115.pdf>
- Di Conza J. & Gutkind G. (2010). Integrons: gene collectors. Rev Argent Microbiol. Vol. 42: 63-78.
- Doyle, M. & Schoeni J. (1987). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from fresh retail meats and poultry. Appl Environ Microbiol. Vol. 53: 2394 - 2396.
- Duggan, S., Mannion C., Prendergast D., Leonard N., Fanning S. & Gonzalez U. (2010). Tracking the *Salmonella* status of pig and pork from lairage through the slaughter process in Republic of Ireland. J Food Prot. Vol. 73: 2148-2160.
- Ercolini, D., Russo F., Nasi A., Ferranti P & Villiani, F. (2009). Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potencial *in vitro* and in beef. Appl. Environ. Microb., 75: 1990- 2001.
- Ercoloni, D., Russo F., Torrieri E., Masi P. & Villiani F. (2006). Changes in the spoilage – related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. Appl. Environ. Microbiol., 72: 4663-4671.
- Eroski Consumer, ES. (2012). Seguridad alimentaria. España. <http://www.consumer.es/seguridadalimentaria/sociedad-y-consumo/2003/11/22/9514.php>



- EUC, European Union Commission. (2005). Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect. Regulation 1831/2003/EC on additives for use in animal nutrition, replacing Directive 70/524/EEC on additives in feed-stuffs, Brussels, 22 December.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2012). Departamento de agricultura y protección al consumidor. Producción y sanidad Animal. Carne y productos cárnicos. Antecedentes. Consumo de carne. <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/background.html>.
- Fernández, F., López J., Ponce L. & Machado C. (2003). Resistencia Bacteriana. Revista Cubana de Medicina. Vol. 32 (1): 44 – 48.
- Flores, C. (2017). Resistencia antibacteriana en cepas de E. coli aisladas del proceso de beneficio bovino en Lima Metropolitana. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.
- Food Info. (2012). *Staphylococcus aureus*. Holanda, Universidad de Wageningen. <http://www.foodinfo.net/es/bact/staur.htm>
- Fox, J., Barthold S., Davisson M., Newcomer C., Quimby F. & Smith A. editors (2007). The Mouse in Biomed Research: Diseases. 2nd Ed. New York: Academic Press.
- Fuster, N. (2006). Importancia del control higiénico de las superficies alimentarias mediante técnicas rápidas y tradiciones para evitar y/o minimizar las contaminaciones cruzadas. Tesis de doctor. Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- Galán, J., Borarull A. & Baquero F. (2014). Impacto de los movimientos migratorios en la resistencia bacteriana a los antibióticos. Revista Española Salud Pública. Vol. 88: 829-837.
- García, P. (1996). Estudio fisicoquímico y microbiológico de la estabilidad de la trucha. Tesis de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima – Perú.
- Gil, M. (2000). *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Revista Chilena de Infectología. Vol. 17 (2): 145-52.
- Gill, C. & Landers C. (2003). Effects of spray-cooling processes on the microbiological conditions of decontaminated beef carcasses. J Food Prot. Vol. 66: 1247 – 1252.
- González, M., Mesa C. & Quintero O. (2014). Estimación de la vida útil de almacenamiento de carne de res y de cerdo con diferente contenido graso. Vitae,



- Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia. Vol. 2 (3): 201 – 210.
- Goodman, & Gilman. (2012), las bases farmacológicas de la terapéutica / editores Laurence L. Brunton, Bruce Chabner, Bjorn Knollman. Traducción Alma Rosa Higuera Murillo *et al.* 12^a ed.
- Gordon, R. & Lowry F. (2008). Pathogenesis of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. Vol. 48 (suppl 5): 350 – 359.
- Gould, L., Mody R., Ong K., Clogher P., Cronquist A., Garman K., Lathrop S., Medus C., Spina N. & Webb T. (2013). Increased recognition of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States during 2000–2010: Epidemiologic features and comparison with *E. coli* O157 Infections. Foodborne Pathogens and Disease. Vol. 10: 453 - 460.
- Gun, H., Yilmaz A., Turker S., Tanlasi A. & Yilmaz H. (2003). Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by *Escherichia coli* O157: H7 in Istanbul. International Journal of Food Microbiology. Vol. 84: 339 – 344.
- Hall, H. & Angelotti R. (1965). *Clostridium perfringens* in meat and meat products. Appl Microbiol. Vol. 13 (3): 352 – 357.
- Harris, L., Foster S., & Richards R. (2002). An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relations to adhesion to biomaterials: Review. Eur Cells Mater. Vol. 4 (2): 39 – 60.
- Hayes, J., English L., Carter P., Proescholdt T., Lee K., Wagner D. & White D. (2003). Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from retail meats. Appl Environ Microbiol. Vol. 69: 7153 – 7160.
- He, T., Shen Y., Schwarz S., Cai J., Lv Y., Li J. *et al.* (2016). Genetic environment of the transferable oxazolidinone/phenicol resistance gene *optrA* in *Enterococcus faecalis* isolates of human and animal origin. J Antimicrob Chemother. 71 (6): 1466-1473.
- Heredia, N., Dávila J., Solís L. & García S. (2014). Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. Revista NACAMEH. Vol. 8, Supl. 1: 20 – 42.
- Hernández, S., Estrada A., Sánchez I., Castro J., Román A. & Santos E. (2007). Condiciones microbiológicas en el proceso del sacrificio en un rastro municipal del Estado de Hidalgo, México. Rev. Vet. Méx. Vol. 38: 187 – 195.



- Hernández, U. (2016). Factores ecológicos que determinan el comportamiento microbiano en los alimentos, Microbiología de los alimentos, fundamentos y aplicaciones en ciencias de la salud. México D.F. Médica Panamericana.
- Ho, J., O'Donoghue M. & Boost M. (2014). Occupational exposure to raw meat: A newly recognized risk factor for *Staphylococcus aureus* nasal colonization amongst food handlers. International Journal of Hygiene and Environmental Health. Vol. 217:347–353.
- ICMSF, International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1996). ICMSF. (1998). Microorganisms in Foods - Microbial Ecology of Food Commodities. Vol 6, Blackie Academic & Professional, London.
- In Food Quality. (2019). Microorganismos y alimentos [On-line]. Fecha de consulta 6 de marzo del 2019. Disponible en http://www.epralima.com/infoodquality/materiais_espanhol/Manuais/3.Microorganismos_y_alimentos.pdf.
- INS, Instituto Nacional de Salud del Perú. (2009). Tablas peruanas de composición de alimentos. Octava edición. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Lima – Perú. 64 p.
- INS, Instituto Nacional de Salud. (2002). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de Normas Técnicas N° 30. Ministerio de Salud. Lima – Perú. 67 p.
- Intestinally pathogenic *Escherichia coli*. In Microorganisms in Foods 5. Characteristics of microbial pathogens, Gaythersburg. MD: Aspen Publishers, Inc. p 126-140.
- Jay, J. (1967). Nature, characteristics and proteolytic properties of beef spoilage bacteria at low and high temperatures. Appl Microbiol. Vol. 15: 943 – 944.
- Jay, J., Loessner M. & Golden D. (2005) Intrinsic and extrinsic parameters of foods that affect microbial growth. In: Heldman DR (ed) Modern Food Microbiology. Springer Science, New York. p. 39-59.
- Jay, J., Loessner M. & Golden D. (2005). Modern Food Microbiology. 7th Edición. Ed. Springer. Estados Unidos.
- Jiménez, M., Chaidez C. & León J. (2012). Calidad microbiológica de carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa. Vét. Méx. Vol. 43 (4): 273-284. <http://www.scielo.org.mx/pdf/vetmex/v43n4/v43n4a2.pdf>.



- Junod, T. (2010). Susceptibilidad a antibióticos en cepas de *Salmonella* entérica de origen animal y alimentario. Universidad de Concepción - Chile.
- Jurado, V. & Pacheco K. (2019). Determinación de los factores extrínsecos e intrínsecos que afectan la vida útil de la malteada Nutrángel en Cúcuta en el año 2018 – 2019. Trabajo de grado en Bacteriología y Laboratorio Clínico. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Santander “UDES” – Campus Cúcuta. San José de Cúcuta – Colombia. 103 p.
- Kaper, B., Nataro J. & Mobley H. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology. Vol. 2 (2): 123 – 140.
- Karesh, W., Dobson A., Lloyd S., James O., Lubroth J., Dixon M. *et al.* (2002). Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. The Lancet. Vol. 380: 1936-1945.
- Katzung, B., Masters S., & Trevors A. (2013) Farmacología Básica y Clínica, 12^a ed. McGraw Hill Interamericana.
- Kenneth, M. & Wener M. (2007). Department of Infectious Diseases. Lahey Clinic, Burlington, MA. Review provided by Veri Med Healthcare Network.
- Kenneth, M. & Wener M. (2007). Department of Infectious Diseases. Lahey Clinic, Burlington, MA. Review provided by Veri Med Healthcare Network.
- Kérouanton, A., Hennekinne J., Letertre C., Petit L., Chesneau O., Brisabois A. & De Buyser M. (2007). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. Int J Food Microbiol. Vol. 115 (3): 369 – 375.
- Kérouanton, A., Hennekinne J., Letertre C., Petit L., Chesneau O., Brisabois A. & De Buyser M. (2007). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. Int J Food Microbiol. Vol. 115 (3): 369-75.
- Koohmaraie, M., Arthur T., Bosilevac J., Guerini M., Shackelford S. & Wheeler T. (2005). Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. Meat Science. Vol. 71: 79 – 91.
- Kperegbeji, J. & Onwunere O. (2014). Microbial contamination of fresh meat processed in public abattoir and slaughter slab system of operations. Global journey of animal scientific research. Vol. 2 (3): 220 – 223.
- Lacueva, M. (2017). Resistencia a antibióticos en *Staphylococcus aureus*. Evolución y perspectiva actual. Trabajo de Fin de Grado. Facultad de Farmacia, Universidad



Complutense.

España.

<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MANUEL%20LACUEVA%20ARNEDO.pdf>.

- Larsen, A., Steagerm S., Sourm M., Monnet D. & Skou R. (2009). Emergence and characterization of community associated Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus* Infection in Denmark, 1999 to 2006. J Clin Microbiol. Vol. 47 (1):73-78.
- Laura, E. (2017). Método de Análisis Microbiológico de los Alimentos. Mayvar Impresores Ed., 1° edición. Puno.
- Lin, M. & Hayden M. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant Enterococcus: recognition and prevention in intensive care units. Crit Care Med. Vol. 38 (Suppl.8): S335-S344.
- Liu, Y., Wang Y., Walsh R., Yi L., Zhang R., Spencer J. *et al.* (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism mcr-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 16 (2): 161-168.
- Llarrull L., Fisher J. & Mobashery S. (2009). Molecular Basis and Phenotype of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Insights into New β -Lactams that Meet the Challenge. Antimicrob. Agents Chemother. Vol. 53 (10): 4051 – 4063.
- López, L., Bettin A. & Suárez H. (2015). Caracterización microbiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* en productos cárnicos comercializados en Cartagena, Colombia. Rev. Costarricense de Salud Pública. Vol. 25 (2): 113 – 121.
- Lowy, F. (2003). Antimicrobial Resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest. Vol. 111 (9): 1265-73.
- Madigan J. (2003). Biología de los microorganismos. Madrid, España: Editorial Pearson Practice Hall.
- Martínez, A., Montes de Oca M., Alemañy J., Marrero E., Reyna R. & Cedeño R. (2017). Resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el hospital Dr. Gustavo Aldereguía Lima. Revista Medisur. Vol. 15 (2): 210 – 216.
- Martínez, S. (2005). Influencia de la catalasa y de la β -toxina en la patogénesis de *Staphylococcus aureus*. Memoria de Doctorado. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.



- Mcdonald, K. & Sun D. (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*; 52: 1-27.
- Medicamecum. (2013). *Guía de Terapia Farmacológica*, 18ª ed. Editorial Adis International.
- Medina, A. (2011). Resistencia antimicrobiana en aislados de *Escherichia coli* de conejos tratados por vía oral con diferentes pautas de doxiciclina. Repositorio de Tesis Universidad Complutense de Madrid. Universidad Complutense de Madrid, España.
- Moreno, C., González R. & Beltrán C. (2009). Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Revista Otorrinolaringología Cirugía Cabeza y Cuello*. Vol. 69: 185-192.
- Moreno, M., Castillo, M., Ferrebuz, A., Osorio, W., Torres, M., & López, D. (2018). Resistencia bacteriana en pequeños animales, potencial riesgo para la salud humana. *Rev. Electrón. Vet.* Vol. 19 (2): 1 – 24.
- Morocco, M. (2019). Determinación de la calidad bacteriológica de hamburguesas de carne y pollo expendidos en la “Feria del Altiplano” y el “Mercado Metropolitano” durante los meses noviembre – mayo, Arequipa, 2019. Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa – Perú. 110 p.
- Morrisey. I., Hackel M., Badal R., *et al.* (2011). A review of ten years of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) from 2002 to 2011. *Pharmaceuticals*. Vol. 6: 1335 – 1346.
- Mosquito, S., Ruiz J., Bauer J. & Ochoa T. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev. Per Med. Exp Salud Pública*. Vol. 28 (4): 648 – 656.
- Mossel D. (2003). *Microbiología de los Alimentos*. 2ª edición. Editorial Acribia. Zaragoza – España.
- Murray, R. & Pfaller A. (2007) *Microbiología médica*. 5a ed. Última Reimpresión. Elsevier España. p. 221-236.
- Nayarit, N., Rubio, M., Delgado, E., Méndez, D., Braña, D., & Rodas, O. (2016). Perfil de resistencia a antibióticos de serotipos de *Salmonella* spp. aislados de carne de res molida en la Ciudad de México. *Rev. Salud Publica de México*. Vol. 58 (3): 371–377.



- NNIS, National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance. (2004). System report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*. Vol. 32: 470 – 485.
- Nørnung, B., Andersen J., & Buncic S. (2009). Main concerns of pathogenic microorganisms in meat. En: *Safety of meat and processed meat*, pp. 3-29: Springer.
- NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01. (2008). Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA. Normas Legales Diario Oficial El Peruano. Lima – Perú.
- OMS (2001). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. *Rev Panam Salud Pública*. Vol. 10: 284 - 293.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (2001). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. p. 9.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (2011). *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). Informe técnico. Nota descriptiva N°125.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (2017). Guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals. Geneva: World Health Organization. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.OMS.
- OPS, Organización Panamericana de la Salud. (2001). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. *Rev Panam Salud Publica*. Vol. 10: 284-293.
- OPS/OMS, Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Alerta Epidemiológica: Enterobacterias con resistencia transferible a colistina. Implicaciones para la salud publica en las Américas. 10 de junio de 2016, Washington, D.C.: OPS/OMS. 2016.
- Ortega, C., Solo H., Abdelzاهر A., Wright M., Deng Y. & Stark L. (2009). Correlations between microbial indicators, pathogens, and environmental factors in a subtropical estuary. *Mar Pollut Bull*. Vol. 58: 1374 – 1381.
- Pallecchi, L., Malossi M., Mantella A., Gotuzzo E., Trigoso C., Bartoloni A., *et al.* (2004). Detection of CTX-M-type betalactamase genes in fecal *Escherichia coli* isolates from healthy children in Bolivia and Peru. *Antimicrob Agents Chemother*. Vol. 48: 4556-4561.



- Palomino de la Gala R. (2012). Prescripción razonada de fármacos sobre bases fisiopatológicas. Ed. Concytec, Lima Perú.
- Parrilla, M., Vazquez J., Saldade E., & Castañeda L. (1993). Brotes de toxiinfecciones alimentarias de origen microbiano y parasitario. Salud pública de Méx. Vol. 35 (5): 456 – 463.
- Pascual, M., & Calderón, V. (2000). Microbiología alimentaria, metodología analítica para los alimentos y bebidas. Editorial Díaz de Santos S. A. Madrid – España. 429 p.
- Pascual, R. (2005). Enfermedades de origen alimentario, su prevención. Ediciones Díaz de Santos, S.A. 208 p.
- Pérez, R. (2010). Farmacología Veterinaria. Textos de apoyo a la docencia. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción. Concepción – Chile. 417 p.
- Perry, J. & Freydière A. (2007). The application of chromogenic media in clinical microbiology. J Appl Microbiol. Vol. 103: 2046-2055.
- Podpečan, B., Pengov A. & Vadnjaj S. (2007). The source of contamination of ground meat for production of meat products with bacteria *Staphylococcus aureus*. Slovenian Veterinary Research. 44: 25-30.
- Púa, A. & Navas N. (2014). Calidad higiénica y determinación de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en carne de cerdo en expendios de Barranquilla. Rev. @limentech Ciencia y Tecnología Alimentaria. Vol. 12 (1): 15 – 22.
- Quesada, A., Reginatto, G., Ruiz, A., Colantonio, L., & Burrone, M. (2016). Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública. Vol. 33 (1): 32 – 44.
- Ramon, P., Sati H., & Galas M. (2018). Enfoque de una salud en las acciones para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos desde una óptica latinoamericana. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 35 (1):103-9.
- Rankin, I. (2005). Sistemas comerciales. En: Coyle MB, ed. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Seattle, WA: Organización Panamericana de la Salud (PAHO). p. 93-100.
- Ray, B. & A. Bhunia. (2010). Fundamentos de Microbiología de Alimentos. 4ª EdMéxico: Mc Graw Hill Interamericana.
- Reyes, J., Cárdenas O., Cruz H., Moreno J., Pérez K. & Rodríguez D. (2009). Determinación de fenotipos y genotipos de resistencia a macrólidos, lincosamidas



- y estreptograminas B (MLSB) en aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina asociados a la comunidad (SARM-AC) en tres países Latinoamericanos. Bogotá: Universidad El Bosque.
- Reyes, J., Hidalgo M., Díaz L., Rincón S., Moreno J., Vanegas N. *et al.* (2007). Characterization of macrolide resistance in Grampositive cocci from Colombian hospitals: a countrywide surveillance. *Int J Infect Dis*. Vol. 11: 329-336.
- Reyes, J., Rincón S., Díaz L., Panesso D., Contreras G., Zurita J. *et al.* (2009b). Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 sequence type 8 lineage in Latin America. *Clin Infect Dis*. Vol. 49: 1861-1867.
- Reyes, N., Talavera, M., Varela, J., Barba, J., Gutiérrez, A., & Alonso, U. (2013). Prevalencia y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* O157:H7 aislada de canales de bovinos sacrificados en rastros del altiplano central Mexicano. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* Vol. 4 (2): 235 – 242.
- Sabate, M. & Guillem P. (2002). Estructura y función de los integrones. *Enfer Infecc Microbiol Clin*. Vol. 20: 341 – 345.
- San Martin, B., Kruze, J., Morales, M., Agüero, H., Leon, B., Espinoza, S., & Borie, C. (2002). Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y X Región, Chile. *Arch. Med. Vet.* Vol. 34 (2): 221 – 234.
- Sánchez, M., Gutiérrez, N., Padilla, M., & Suárez, L. (2015). Resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas de clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué , Colombia. *Rev. Univ. Salud*. Vol. 17 (1): 18 – 31.
- Scallan, E., Hoekstra R., Angulo F., Tauxe R., Widdowson M., Roy S., Jones J. & Griffin P. (2011). Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 17: 1338 – 1340.
- Scheutz, F. & Strockbine N. (2005). Genus I. *Escherichia*. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 2: 607 – 623.
- Scov, L. & Monnet L. (2016). Plasmid-mediated colistin resistance (mcr-1 gene): three months later, the story unfolds. *Euro Surveill*. 21 (9).
- SENASA – PERÚ, Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú. (2015). Procedimiento: toma y envío de muestras de alimentos agropecuarios primarios y piensos. Dirección de Insumos Agropecuarios e Inocuidad Agroalimentaria. 39 p.



<https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2015/10/PRO-SIAG-07.-PROCEDIMIENTO-TOMA-Y-ENV%20C3%8DO.pdf>.

- SIVIGILA, Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública. 2013. Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Bogotá.
<http://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/MANUAL%20DEL%20USUARIO%20SIVIGILA%202010.pdf>.
- Smith, L. (1996). Role of osmolytes in adaptation of osmotically stressed and chill-stressed *Listeria monocytogenes* grown in liquid media and on processed meat surfaces. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 62: 3088 – 3093.
- Tang, L., Caffrey P., Nobrega B., Cork C., Ronksley E., Barkema W., *et al.* (2017). Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. Lancet Planet Health. 1 (8): e316-e327.
- Tibavizco, D., Jy R., Silva E., Cuervo S. & Cortés J. (2007). Therapeutic approach to *Staphylococcus aureus* bacteremia. Biomédica. Vol. 27: 294-307.
- Tortora, G. & Funke B. (2007). Introducción a la microbiología. Editorial Médica Panamericana. Buenos aires, Argentina.
- Vargas, M. (2015). Evaluación microbiológica de la carne bovina en mercados y camal del Cantón Machala, provincia de El Oro. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Machala. Ecuador. 45 p.
- Vasconcelos, N. & De Souza M. (2010). *Staphylococcus* enterotoxins: Molecular aspects and methods. J Public Health Epidemiol. Vol. 2 (3): 29 – 42.
- Velázquez, E. (2005). Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilorresistente. Salud Pública de Méx. Vol. 47 (5): 381 – 387.
- Villanueva, G., & Morales, S. (2017). Resistencia antibiótica de patógenos bacterianos aislados de mastitis clínica en bovinos de crianza intensiva. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. Vol. 18 (12): 1 – 12.
- Wolffs, P. & Radstrom P. (2006). Real-time PCR for the detection of pathogens in meat. Capítulo 6, En: Advanced Technologies for Meat Processing, L.M.L. Nollet y F. Toldrá, Ed., Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker, pp. 131 – 154.



- Zaho, C., Ge B., De Villena J., Sudler R., Yeh E., Zhao S. *et al.* (2001). Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork and beef from the greater Washington D. C. area. *Appl Environ Microbiol.* Vol. 67: 5431 – 5436.
- Zendejas, G., Ávalos H. & Soto M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev. Biomed.* Vol. 25: 129 – 143.
- Zhao, C., Ge B., De Villena J., Sudler R., Yeh E. & Zhao S. *et al.* (2001). Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the Greater Washington, D.C. *Appl Environ Microbiol.* Vol. 67: 5431 – 436.
- Zotta, M., Lavayén, S., Nario, F., & Piquín, A. (2016). Detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en vísceras e animales bovinos y pollos destinadas para el consumo humano. *J. Selva Andina Res. Soc.* Vol. 7(1): 2 – 9.

ANEXOS

Tabla 12. Halos de inhibición (mm) de *Escherichia coli* frente a los antibióticos, Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la FCCBB – UNA Puno, agosto – noviembre 2019.

Antibióticos	Diámetro de halos de inhibición (mm)											
	Las Mercedes				Túpac Amaru				Santa Bárbara			
	m 1	m 2	m 3	\bar{X}	m 1	m 2	m 3	\bar{X}	m 1	m 2	m 3	\bar{X}
Ampicilina	11	17	16	14.67	10	16	15	13.67	13	7	12	10.67
Ciprofloxacina	15	15	20	16.67	13	15	20	16.00	17	13	21	17.00
Cefuroxima	0	14	9	7.67	0	7	22	9.67	7	0	9	5.33

Tabla 13. Halos de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* frente a los antibióticos, Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la FCCBB – UNA Puno, agosto – noviembre 2019.

Antibióticos	Diámetro de halos de inhibición (mm)											
	Las Mercedes				Túpac Amaru				Santa Bárbara			
	m 1	m 2	m 3	\bar{X}	m 1	m 2	m 3	\bar{X}	m 1	m 2	m 3	\bar{X}
Clindamicina	11	17	18	15.33	13	15	17	15.00	17	19	16	17.33
Penicilina	23	12	20	18.33	14	22	20	18.67	22	27	27	25.33
Eritromicina	14	22	22	19.33	19	9	22	16.67	16	13	11	13.33

Tabla 14. Análisis de varianza de los recuentos de bacterias aerobias mesófilas entre muestras de carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3362.67	2	1681.33	2.48	0.1637
Mercados	3362.67	2	1681.33	2.48	0.1637
Error	4061.33	6	676.89		
Total	7424.00	8			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=65.17894

Error: 676.8889 gl: 6

Mercados	Mediasn	E.E.
Santa Bárbara	281.33 3	15.02 A



Las Mercedes	258.67	3	15.02	A
Túpac Amaru	234.00	3	15.02	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 15. Análisis de varianza de los recuentos de *Escherichia coli* en muestras de carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	248.22	2	124.11	1.33	0.3337
Columna1	248.22	2	124.11	1.33	0.3337
Error	562.00	6	93.67		
Total	810.22	8			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=24.24606

Error: 93.6667 gl: 6

Columna1	Medias	n	E.E.	
Túpac Amaru	222.67	3	5.59	A
Santa Bárbara	219.67	3	5.59	A
Las Mercedes	210.33	3	5.59	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Tabla 16. Análisis de varianza de los recuentos de *Staphylococcus aureus* en muestras de carne de bovinos en tres mercados de la ciudad de Juliaca.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	844.67	2	422.33	2.84	0.1354
Mercados	844.67	2	422.33	2.84	0.1354
Error	891.33	6	148.56		
Total	1736.00	8			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=30.53466

Error: 148.5556 gl: 6

Mercados	Medias	n	E.E.	
Túpac Amaru	126.67	3	7.04	A
Las Mercedes	107.00	3	7.04	A
Santa Bárbara	105.33	3	7.04	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).



Figura 4. Muestras de carnes de bovino colectado en tres mercados de la ciudad de Juliaca, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.



Figura 5. Preparación de medios de cultivo para recuento de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.



Figura 6. Plaqueo de medios de cultivo para los recuentos bacterianos, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.

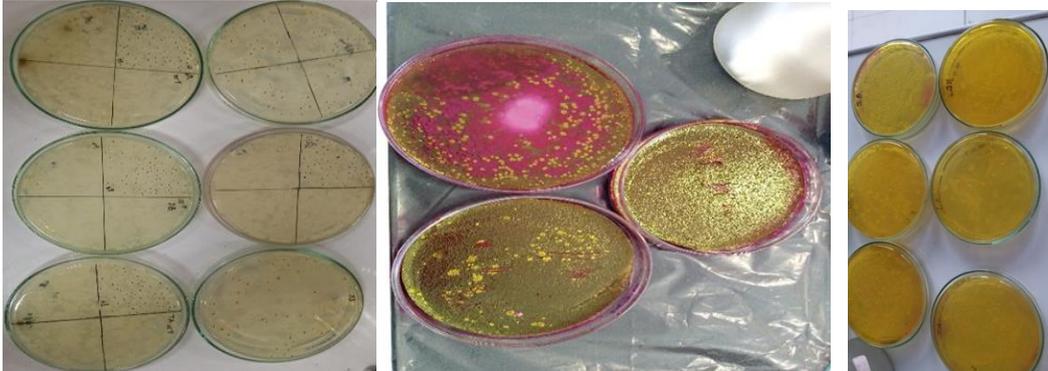


Figura 7. Crecimiento de colonias de recuento de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.



Figura 8. Recuento de colonias de bacterias aerobias mesófilas, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.



Figura 9. Crecimiento de colonias de recuento de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.



Figura 10. Cultivo en agares para pruebas bioquímicas, pruebas de catalasa y coloración Gram para el reconocimiento bacteriano, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.



Figura 11. Resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.

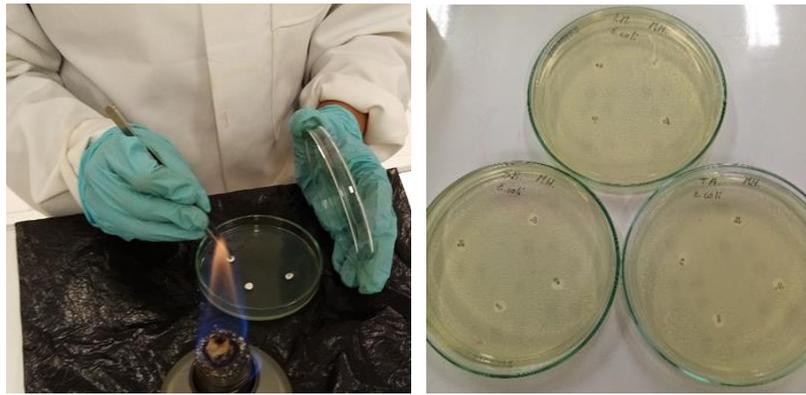


Figura 12. Resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.

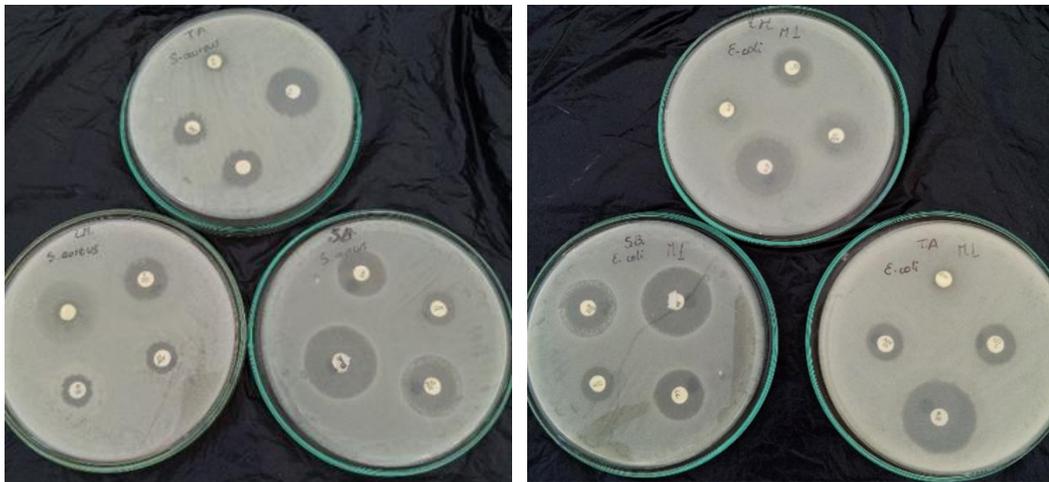


Figura 13. Resultados de los halos de inhibición bacteriana en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, julio – septiembre 2019.

Fuente: elaboración propia.



Universidad Nacional del Altiplano de Puno

Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Biología
Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico
Laboratorio de Botánica y Biotecnología



Registro: 004-2020

CONSTANCIA

LA QUE SUSCRIBE, **DECANO** DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO – PERÚ.

HACE CONSTAR:

Que el (la) Bachiller **YANETH LUCELY CARI CANAZA**, egresado (a) de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha realizado la parte experimental de su trabajo de investigación (Tesis) titulado: **RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE BACTERIAS AISLADAS DE CARNES DE BOVINOS EXPENDIDOS EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE JULIACA**, en el laboratorio de Botánica y Biotecnología, del Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico de la Escuela Profesional de Biología, entre los meses de julio a noviembre del 2019.

Se le expide la presente Constancia a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 03 de noviembre del 2020.



Firmado digitalmente por LAURA
CHAUCA DE MEZA Eva FAU
20145498170 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 05.11.2020 19:47:15 -05:00

M. Sc. EVA LAURA CHAUCA
DECANO
FCCBB – UNA Puno